In vitro-Untersuchungen über die Beeinflußbarkeit des experimentellen Hirnödems beim Kaninchen durch einige Zuckerphosphate, gemessen an verschiedenen Kriterien

INAUGURALDISSERTATION

zur Erlangung der Dokotwürde der

HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT

DER UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

vorgelegt von

Joachim Klinge

Saarbrücken

1973

1974

Aus dem Fachbereich IV
Fachrichtung Neurochirurgie
Direktor: Prof. Dr. med. F. Loew

In vitro-Untersuchungen über die Beeinflußbarkeit des experimentellen Hirnödems beim Kaninchen durch einige Zuckerphosphate, gemessen an verschiedenen Kriterien.

I N A U G U R A L D I S S E R T A T I O N
zur Erlangung der Doktorwürde der
HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
DER UNIVERSITÄT DES SAARLANDES
1973

vorgelegt von
Joachim Klinge
geb. am 6.3.1949 in Kübelberg

Dekan: Prof. Dr. med. G. A. Jutzler
Referent: Prof. Dr. med. F. Loew

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Promotionsdatum:
4. März 1974

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S :

1.	Abkürzungsverzeichnis	3
2.	Aufgabenstellung und Einleitung	5
3.	Material und Methoden	16
3.1.	Präparation des Materials	16
3.1.1.	Kälteödem	16
3.1.2.	Hirnschnitte	16
3.2.1.	Manometrische Stoffwechselmessung	19
3.2.2.	Trockensubstanz-Bestimmung	23
3.2.3.	Glukose-Bestimmung	24
3.2.4.	Laktat-Bestimmung	25
3.2.5.	Pyruvat-Bestimmung	26
3.2.6.	F-1,6-P_2 - Bestimmung	27
3.2.7.	Triosephosphat-Bestimmung	29
3.2.8.	Elektrolyt-Bestimmung	3o
3.2.9.	Inulin-Bestimmung	31
4.	Darstellung der eigenen Befunde	33
4.1.	Schwellung, Wassergehalt vor und nach Versuch	33
4.2.	Gasstoffwechsel	39
4.3.	Glukose-, Laktat- und Pyruvat-Stoffwechsel	6o
4.4.	F-1,6-P_2 - und Triosephosphat-Bestimmung	69
4.5.	Gesamtgehalt der Elektrolyte	72
4.6.	EZR und IZR	77
4.7.	Intrazelluläre Elektrolyte nach Versuch	8o
5.	Besprechung der Ergebnisse	82
6.	Zusammenfassung	115
7.	Literaturverzeichnis	123

1. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS:

mM	= millimolar
G	= "Gesund" : bezeichnet die Hirnschnitte, die der nicht-ödematösen Hirnhemisphäre entstammen.
Ö	= "Ödem" : bezeichnet die Hirnschnitte, die der ödematösen Hirnhemisphäre entnommen wurden.
Kontrolle	= bezeichnet die Hirnschnitte, denen während des WARBURG-Versuches keine Substanzen zugekippt wurden.
G-1-P, Na	= Glukose-1-phosphat als Natrium-Salz
G-6-P, Na	= Glukose-6-phosphat als Natrium-Salz
F-1-P, Na	= Fruktose-1-phosphat als Natrium-Salz
F-6-P, Na	= Fruktose-6-phosphat als Natrium-Salz
F-1,6-P_2, Na	= Fruktose-1,6-diphosphat als Natrium-Salz
F-1,6-P_2, Ca	= Fruktose-1,6-diphosphat als Kalzium-Salz
DAP	= Dihydroxyazetonphosphat
GAP	= Glyzerinaldehydphosphat
Q-Werte	= Gasstoffwechsel-Werte, Dimension: mm^3 Gas pro mg Trockensubstanz und Stunde
Q_{O_2}	= Gasstoffwechsel-Wert für Sauerstoff
Q_{CO_2}	= Gasstoffwechsel-Wert für Kohlendioxyd
Q_M	= Kohlendioxyd aus der aeroben Milchsäurebildung (durch H^+ aus HCO_3^- freigesetzt)
o-3o' vor	= Q-Werte für die Zeit vor dem Zukippen

der Substanzen

30-70' nach = Q-Werte für die Zeit von 30 bis 70 Minuten nach der Zugabe der Substanzen

Trs. = Trockensubstanz der Hirnschnitte

EZR = Extrazellular-Raum

IZR = Intrazellular-Raum

2. AUFGABENSTELLUNG und EINLEITUNG:

Nach dem Stand bisher im Labor der Neurochirurgischen Klinik Homburg durchgeführter in vitro-Versuche hat es den Anschein, daß besonders die Mono- und Diphosphate der Fruktose den Glukose-Stoffwechsel des Gehirns steigern und den Wassergehalt der Hirnschnitte nach in vitro-Inkubation senken. Die Reproduzierbarkeit dieser Beobachtung soll in der vorliegenden Arbeit überprüft werden, auch soll eine Konzentrationsabhängigkeit der Effekte ermittelt werden.

Aus dem in der folgenden Arbeit zu behandelnden Problem können eine Reihe weiterer Fragen eruiert werden, deren Beantwortung den Themenkreis der Dissertation erweitern und die Art und Weise der Beeinflussung des Hirnödems genauer zu klären versuchen wird.

1. Die Frage nach der Reaktion der Zuckerphosphate: Ist der Effekt der Mono- und Diphosphate auf das Hirnödem rein osmotisch bedingt oder werden sie selbst als Substrat abgebaut und somit der Glukose-Stoffwechsel im Rahmen des Abbaues nach dem EMBDEN-MEYERHOF-PARNAS-Schema gesteigert?
2. Die Frage nach der Wasserausschwemmung: Betrifft die Wasserverringerung sowohl den Intra- (IZR) als auch den Extrazellular-Raum (EZR) gleichermaßen oder unterschiedlich?
3. Die Frage nach den Elektrolytkonzentrationen der

Hirnschnitte:

Wie verändert sich der Gesamt-Kationengehalt (Na^+ und K^+) der Kortexschnitte? Welche Ionenkonzentrationen findet man im IZR nach Ablauf der Versuche?

4. Die Frage nach dem Gasstoffwechsel:
Wird der Gasstoffwechsel des Hirngewebes durch Zugabe verschiedener Zuckerphosphate beeinflußt?

Die Beseitigung der intrakraniellen Raumbeengung stellt ein weites und wichtiges Aufgabengebiet im Rahmen der neurochirurgischen Klinik dar. Das pathologisch-anatomische Substrat, das der intrakraniellen Raumeinengung zugrunde liegt, ist verschiedener Genese, z.B. Tumor, entzündliche Prozesse, Überproduktion oder Abflußstauung von Liquor, Stauung im venösen Schenkel des Kreislaufs aus lokaler oder allgemeiner Ursache, traumatisch bedingte Hämatome und auch Volumenvermehrung des Gehirns selbst: Hirnschwellung und Hirnödem. Die intrakranielle Raumbeengung spiegelt das Mißverhältnis zwischen der Kapazität des Neurokraniums, die durch seine knöcherne Struktur fixiert ist (Ausnahme: der noch nicht durch seine Nähte synostotisch verbundene Hirnschädel des Kleinkindes), und der Zunahme des Hirnvolumens wieder. Operative Maßnahmen vermögen nur einen Teil dieser pathologischen Zustandsbilder zu beseitigen, das Ödem unter anderem entzieht sich jedoch aufgrund seiner Morphologie dieser chirurgischen Intervention.

Doch gerade das Hirnödem stellt in der Zeit der Rekon-

valeszenz neurochirurgisch behandelter Patienten einen außerordentlich bedeutenden Risikofaktor dar, dessen Beseitigung als unumgänglich anzusehen ist; denn daraus kann sich ein akut lebensbedrohlicher Zustand entwikkeln, dem man im Interesse des Patienten wirkungsvoll begegnen muß. Zur Bekämpfung des Ödems wird in der Klinik meistens die Osmo-Therapie angewandt, indem man osmotisch wirksame Substanzen, wie Mannit und Sorbit, gelöst infundiert. Sie beeinflussen den Stoffwechsel des ödematösen Hirngewebes jedoch nicht.

H I R N S C H W E L L U N G und H I R N Ö D E M :

REICHARDT erforschte vor allem einen Typ der intrakraniellen Raumbeengung, nämlich die lokale bzw. generalisierte Volumenvermehrung des Gehirns. Nach der REICHARDT'schen These kann die Hirnvolumenvermehrung durch folgende Definition erfaßt werden: die Schädelkapazität, gemessen in cm^3, wird in Relation zum Hirngewicht, gemessen in g, gesetzt. Ein Unterschied von 1o bis 12 % zugunsten des Schädelinnenraumes wird als Norm angesehen, eine kleinere Differenz gilt als meßbarer Beweis für eine Hirnvolumenvermehrung.

Aufgrund seiner Untersuchungsergebnisse über die morphologischen Veränderungen, die diese Raumeinengung verursacht, postulierte er schon im Jahre 19o5 die Differenzierung dieser Volumenvermehrung in Hirnschwellung und Hirnödem. Diese Ansicht wird jedoch nicht von allen

Forschern auf diesem Gebiet geteilt. In den folgenden beiden Abschnitten soll das morphologisch-anatomische Substrat von Hirnschwellung und Hirnödem kurz erläutert werden.

H I R N S C H W E L L U N G :

In seinem Handbuchartikel über das Hirnödem und die Hirnschwellung fordert REICHARDT für die Hirnschwellung den Nachweis einer absoluten Trockensubstanzvermehrung bei relativer Wassergehaltsverminderung des Gehirns. Der Hirnschwellung, mit dem englischen Synonym "dry brain" besser gekennzeichnet im Vergleich zu "wet brain" für das Hirnödem, liegt eine intrazelluläre Flüssigkeitsansammlung zugrunde, die eine Verbreiterung anatomischer Strukturen, z.B. der Gyri, und Abflachung der Sulki bedingt. Daraus resultiert eine Kompression der Ventrikel und eine feste Gewebskonsistenz. Nach HAMPERL ist nicht die freie Flüssigkeit, sondern das an Gewebsstrukturen gebundene Wasser vermehrt; infolgedessen erscheint die Schnittfläche des Gehirns trocken und klebrig.

SPATZ fand als einzige histologische Abweichung von der Norm Astrozytenverbreiterungen und gelegentlich eine schwache Schwellung der Nervenzellen. ZÜLCH dagegen betrachtet den Ausdruck Hirnschwellung als Oberbegriff für die Zunahme der Gewebsmasse.

Die echte Hirnschwellung ist eine seltenere Form der

Volumenvergrößerung im Vergleich zu dem viel häufigeren Hirnödem.

HIRNÖDEM:

Das Ödem allgemein wird als ein wässrig durchtränktes Gewebe angesehen, dessen Ursache im Übertritt reichlicher Mengen Flüssigkeit aus den Gefäßen in die Gewebsspalten liegt, bedingt durch endogene oder exogene Noxen (HAMPERL). Auch für das Ödem des Zentralnervensystems wurde diese einfache pathologisch-anatomische Definition lange Zeit als gültig erklärt.

Die Konsistenz des ödematösen Gehirns ist weich, weiterhin sind Hirnoberfläche und weiche Hirnhäute feucht. Auf der Schnittfläche, die naß glänzend erscheint, vermischt sich Ödemflüssigkeit mit Blut, das aus durchtrennten Kapillaren sickert, so daß die Blutpunkte zerfließen (REICHARDT). Das insgesamt vergrößerte Gehirn füllt den Schädelinnenraum vollkommen aus, die Gyri werden abgeplattet und die Sulki verstrichen (HAMPERL).

Den makroskopisch festzustellenden Veränderungen sind die mikroskopisch, chemisch und radiographisch erhobenen Untersuchungsbefunde anzufügen.

Anhand elektronenmikroskopischer Forschungen über das experimentelle Hirnödem ergeben sich nicht nur Unterschiede im Verhalten der grauen und weißen Substanz (GONATAS et al., DAVID et al.), sondern auch Differenzen, die auf die Verschiedenheit der ödemauslösenden

Faktoren zurückzuführen sind (ALEU et al.).

Einige sich in vivo entwickelnde Ödeme sind die Folge verschiedener Traumaarten (PAPPIUS). Nach Traumaeinwirkung zeigt das Gehirn drei charakteristische Zonen, eine Trümmerzone (STROEBE), eine indirekt geschädigte Quetsch- (SPATZ) oder Petechienzone (RICKER) und eine peritraumatische Ödemzone (PETERS). Die peritraumatische Ödemzone, die als einzige eine reversible Schädigung darstellt, zeigt Astrozytenschwellungen und alle Übergänge zwischen normalen, leicht und stark geschwollenen Astrogliafortsätzen, vereinzelt bis 2o µ. Die umgebenden Zellmembranen sind nicht zerstört und der Extrazellular-Raum nicht erweitert. Gliaschwellungen finden sich oft in unmittelbarer Nachbarschaft geschrumpfter Nervenzellen, wodurch der Eindruck eines "reziproken Hydratationsverhaltens" entsteht (SCHRÖDER et al.). Die Astrozytenschwellungen gelten als mehr oder minder akute unspezifische Reaktion auf die unterschiedlichsten Noxen.

In vitro tritt ein Hirnödem auf, wenn Hirnschnitte unter günstigen metabolischen Bedingungen in isotonen oder hypertonen Salzlösungen inkubiert werden (ELLIOTT). Das durch Kälte in vivo ausgelöste Ödem ist vergleichbar mit denen, die um hämorrhagische Infarkte, Abszesse und einige Hirntumoren und nach Kontusio auftreten (CLASEN et al.). DE ROBERTIS et al., GERSCHENFELD et al. und auch TORACK et al. vertreten die Ansicht, daß sich der ödematöse Prozeß in und um die Kältelläsion nur intrazellulär abspielt. Im nekrotischen Läsionsgebiet ist je-

doch die Flüssigkeitsansammlung zumeist extrazellulär.

Das Kältetrauma, das nach KLATZO et al. als mittelschwere Gewebsschädigung klassifiziert wird, verursacht nur im Mark eine betonte Erweiterung des Extrazellular-Raumes. Was die Rinde betrifft, kann es erst bei einem stärkeren Ödem, wie NEMETSCHEK-GANSLER und LOEW elektronenmikroskopisch nachwiesen, infolge einer Ruptur der Gliazellen zu einem Flüssigkeitsaustritt ins Parenchym kommen. Die Erweiterung des extrazellulären Raumes in Abhängigkeit vom Schweregrad der Hirngewebsschädigung läßt schließen, daß die Weite des interzellulären Fugensystems und der Zusammenhalt an die Integrität des Gewebes gebunden ist (BAKAY et al.).

Die Volumenvermehrung der Oligodendrogliazellen ist, wenn überhaupt, sehr gering (ALEU et al., KLATZO et al.). Oft sind sie sogar komprimiert durch die geschwollenen Astrozytenfortsätze (LONG et al.).

Das Hirnödem, ausgelöst durch epidurale Kälteapplikation, erreicht ein Maximum nach 24 Stunden, bleibt während der folgenden 24 Stunden fast konstant und erfährt eine annähernd komplette Rückbildung nach 96 Stunden, aufgrund von Wassergehaltsbestimmungen und Impedanzmessungen ermittelt (HERRMANN et al., VAN HARREVELD et al.).

Als weiteres Kriterium für die Ödemdiagnose sind Elektrolytveränderungen anzusehen. Die graue Substanz zeigt einen signifikanten Anstieg von Natrium- und Chloridionen (ALEU et al., CLASEN et al., PAPPIUS et al.), der

Kaliumionengehalt ist erniedrigt (PAPPIUS et al.). Der Wassergehalt ist sowohl in grauer als auch in weißer Substanz erhöht (CLASEN et al., STREICHER et al.).

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß das elektronenmikroskopische Bild des Hirnödems aufgequollene und durchsichtige Astrozytenleiber mit stark ödematösen Zellfortsätzen und hochgradig aufgetriebenen Endfüßchen zeigt, die der Basalmembran der Kapillaren anliegen und sie gelegentlich komprimieren. Im Inneren der Astrozyten lassen sich dichte Ansammlungen von Polysomen und Ribosomen nachweisen, die Mitochondrien sind ödematös erweitert. In der Hirnrinde wird im Gegensatz zum Mark keine extrazelluläre Flüssigkeitsansammlung gefunden (DAVID et al.).

B L U T - H I R N - S C H R A N K E :

Eine der spezifischen Schutzfunktionen für das Zentralnervensystem beruht auf der Tatsache des Vorhandenseins der Blut-Hirn-Schranke. Man weiß, daß stärkste Wasserbelastung des Organismus in allen anderen Organen ein deutliches Ödem verursacht, das Gehirn jedoch keine Steigerung des Wassergehaltes erfährt (GERSCHENFELD et al.). Diese Barriere wird beim Hirnödem aber so erheblich geschädigt, daß noch bis zu vier Wochen nach experimentell gesetztem Hirnödem eine gesteigerte Wasser- und Ionen-Permeabilität nachweisbar ist (KLATZO et al.). Schwere zerebrale Affektionen wie Hirntumoren und Infek-

tionen verletzen ebenfalls die Blut-Hirn-Schranke, was durch das fast immer gleichzeitige Auftreten eines Hirnödems bestätigt wird (QUADBECK et al.). Worin besteht also das morphologisch-anatomische Aussehen der Blut-Hirn-Schranke? Die Autoren, die sich mit dem Aufbau der Blut-Hirn-Schranke befassten, gelangten zu oft unterschiedlichen Ergebnissen.

RODRIGUEZ-PERALTA und SPATZ schreiben dem Endothel der Hirngefäße ein besonderes Permeabilitätsverhalten zu. ZÜLCH erklärt, daß mit dem Endothel zusammen die perivaskuläre Glia die spezifische Funktion der Blut-Hirn-Schranke darstellt. Auch GERSCHENFELD et al. und KLATZO et al. beziehen die Astroglia, die die Hirnkapillaren mit ihren Zellausläufern eng umschließen, in den Aufbau der Blut-Hirn-Schranke mit ein. Nach NIESSING gilt die Basalmembran der Hirnkapillaren als austauschhindernde Barriere. Dagegen vertreten BODENHEIMER et al. und REESE et al. die Ansicht, daß enge Verbindungen zwischen den Endothelzellen die Hauptbarriere für den selektiven Übertritt von Proteinen und Plasma aus den Kapillaren ins umgebende Parenchym sind. Aufgrund elektronenmikroskopischer Untersuchungen erklären EDSTRÖM et al. die Schrankenfunktion mit der Dichte der Zellpopulation um die Kapillarwände des Gehirns im Vergleich zu anderen Organen, weswegen Substanzen im Gehirn zuerst die Kapillarbarriere, dann die Zellmembran passieren und die Einschränkung des Zellmembrantransports berücksichtigen müssen. Die Nukleotidphosphatase-

aktivität fungiert als Kontrolle des Transportmechanismus durch Kapillarwände und Gliazellmembranen, was mittels Ultrastrukturstudien der Nukleotidphosphataseaktivität von TORACK et al. nachgewiesen wurde. Folglich kann ein Aspekt der Störung der Blut-Hirn-Schranke durch den Mangel dieses Typs enzymatischer Aktivität erklärt werden.

"Die perikapillären Astrozytenfortsätze sind als die entscheidenden und spezifischen Elemente der Blut-Hirn-Schranke anzusehen" (SCHALTENBRAND et al.).

Als ein weiteres wesentliches Kriterium der Blut-Hirn-Schranke muß das Fehlen perikapillärer Diffusionsräume gedeutet werden (JAKUMEIT). TANI et al. vermuten, daß "der Blut-Hirn-Schranken-Mechanismus unter normalen Umständen ein Funktionsgefüge darstellt, innerhalb welchem die Endothelzelle als Wählerventil, die Basalmembran als Hauptfilter und der perivaskuläre Astrozyt als Kontrollinstanz fungieren". Das Substrat der Basalmembran ist nicht einer porösen Wand gleich, sondern wahrscheinlich gelartiger Natur.

Der Zusammenbruch der Blut-Hirn-Schranke wird durch das Ablösen der perikapillären Astrozytenfortsätze von der vaskulären Membran gekennzeichnet, dem eine Plasmaexsudation durch Endothelzelle und Basalmembran folgen (SCHRÖDER et al.).

M E T A B O L I S M U S :

In vivo metabolisiert das Gehirn fast ausschließlich Glukose (OPITZ). Der RQ des Gehirns beträgt in vivo o,985 und in überlebenden Hirnrindenschnitten in Gegenwart von Glukose 1 (WEIL-MALHERBE).

Die manometrische Stoffwechselmessung, d.h. Bestimmung des Sauerstoff-Verbrauchs und der Kohlendioxyd-Bildung, unter optimalen Inkubationsbedingungen der Hirnschnitte rechtfertigt den Vergleich mit normalen in vivo-Bedingungen.

Je nach Hirnareal fanden RIDGE und OPITZ unterschiedliche Atmung, die graue Substanz mißt eine 3 bis 1omal stärkere Atmung als das Mark. Das ödematöse Hirngewebe zeigt verglichen mit dem nicht-ödematösen eine gesteigerte Atmung, erhöhte aerobe Glykolyse und vor allem eine vermehrte anaerobe Glykolyse (HERRMANN und DITTMANN).

Im Gegensatz zu normalen Astrozyten lassen geschwollene Astrozyten einen Anstieg oxydativer Enzyme erkennen, sowohl im Zytoplasma als auch in ihren Fortsätzen (FRIEDE). Oligodendroglia und Nervenzellen zeigen dagegen einen Verlust dieser Enzyme.

Die Aktivität Glykogen synthetisierender Enzyme und die Ablagerung von Glykogen in "Astrozytengebieten" bestätigen, daß Astrozyten einen überwiegend glykolytischen Stoffwechsel durchführen (SHIMIZU et al.).

3. M A T E R I A L und M E T H O D E N :

3.1. PRÄPARATION DES MATERIALS:

Es wurden ausgewachsene Kaninchen beiderlei Geschlechts ohne Berücksichtigung der Rasse verwendet.

3.1.1. KÄLTEÖDEME:

Unter lokaler Anästhesie mit Scandicain^{R} wurde auf der rechten Schädelhälfte eine quadratische Trepanation von etwa 11 mm Kantenlänge gesetzt. Die Öffnung reichte maximal 2 mm an die Mittellinie heran und bis zum oberen Orbitarand. Die Kranznaht lag im vorderen Drittel der Trepanation. Die Dura mater blieb unbeschädigt. Ein Kupferwürfel von 1o mm Kantenlänge wurde in Azeton-Kohlensäure-Schnee auf zirka -7o Grad gekühlt und 3o Sekunden lang auf die intakte Dura mater unter der Trepanation ohne zusätzlichen Druck gehalten.

Nach Abspülen äußerlich anhaftenden Eises mit destilliertem Wasser wurde Nebacetin^{R}-Puder auf die Dura mater gestreut; abschließend wurde die Wunde vernäht.

3.1.2. HERSTELLUNG DER HIRNSCHNITTE:

Nach 24 Stunden wurden Die Tiere durch Einspritzen von Luft in eine Ohrvene getötet, der Schädel wurde ge-

öffnet. Nach Aufschneiden der Dura mater längs der Mittellinie wurde das Gehirn mit einem Löffel herausgenommen und sofort in eisgekühlte Salzlösung gegeben.

Zwischen Tod der Tiere und Herausnahme des Gehirns vergingen regelmäßig 3 bis 5 Minuten.

Ein größerer Teil der Versuchstiere wurde ohne vorherige Kälteapplikation direkt getötet. Die Gehirne wurden in der gleichen Weise behandelt.

Die Salzlösung wird abgekürzt "K-Lösung" genannt und hat folgende Zusammensetzung:

NaCl	1o6 mM
KCl	4,7 mM
$CaCl_2$	2,5 mM
$MgSO_4$	o,8 mM
KH_2PO_4	o,3 mM
Na_2HPO_4	1,2 mM
$NaHCO_3$	25 mM

Die Glukose-Konzentration der K-Lösung war folgende:

1o mM Glukose bei den Versuchen: 12, 13, 16, 26.

5 mM Glukose bei den Versuchen: 4, 6, 1o, 11, 14, 15, 19, 2o, 21, 22, 23, 24, 25, 27, 28, 29, 3o, 31, 32.

2,5 mM Glukose bei den Versuchen: 1, 2, 3, 5, 7, 8, 9, 17, 18.

Bei den Versuchen 15, 21, 28, 29, 3o und 31 war der NaCl-Gehalt der K-Lösung um 5 mM geringer als oben angegeben.

Die gesamte weitere Präparation wurde in einer Petri-

schale durchgeführt, die in einer größeren mit Eisstükken gefüllten Petrischale stand. Von beiden Hirnhemisphären wurden aus einander möglichst genau entsprechenden Hirnregionen 2 Streifen von etwa 5 mm Breite, von der Mittellinie nach temporal verlaufend, entnommen. Die Streifen grenzten bis an die Ventrikel und lagen so, daß sie auf der kältegeschädigten Seite unmittelbar okzipital an die nekrotisch gewordene Stelle der Kälteeinwirkung angrenzten. Nach Abpräparieren von kortikalen Gefäßen, Arachnoidea und weißer Substanz wurde die graue Substanz mit Skalpell und Pinzette in Scheiben von maximal o,3 mm Dicke und o,5 bis 1 mm Kantenlänge geschnitten. Die Scheiben wurden jeweils möglichst schnell in kalte "K-Lösung" gegeben.

Ein Stück von 5o bis 8o mg Frischgewicht wurde direkt nach Abtupfen anhaftender Flüssigkeit gewogen und zur Trockensubstanz-Bestimmung verwendet.

Nach mehrmaligem Waschen (aufwirbeln mit frischer "K-Lösung", absetzen lassen und abgießen der Lösung) wurden die Schnitte in Faltenfiltern von der "K-Lösung" abgetrennt und mit einer Pinzette möglichst gleichmäßig in vorbereitete Reaktionsgefäße nach WARBURG verteilt.

Es wurden Kegelgefäße mit großem Anhänger und Birne (B.BRAUN Apparatebau, Melsungen, Best.-Nr. A o6-65) verwendet.

3.2.1. MANOMETRISCHE STOFFWECHSELMESSUNG:

Bei aerober Inkubation tierischer Schnitte in Salzlösungen mit Bikarbonat und Substrat wird Sauerstoff verbraucht (Atmung) und Kohlendioxyd gebildet (Atmung und aerobe Glykolyse).

Das Problem ist also, gleichzeitig den O_2-Verbrauch, der eine Druckabnahme im manometrischen System verursacht, und die CO_2-Bildung, die zu einer Druckzunahme führt, zu messen.

Bei der Zwei-Gefäß-Methode nach WARBURG wird dieses Problem folgendermaßen gelöst: In das Gefäß I wird "K-Lösung" mit Schnitten gegeben, in das Gefäß II wird die gleiche Menge "K-Lösung" mit ungefähr der gleichen Schnittmenge gegeben, außerdem füllt man in den großen Anhänger dieses Gefäßes einen 3 molaren $KHCO_3$ - K_2CO_3 - Puffer solcher Zusammensetzung, daß er mit einem bestimmten CO_2-Partialdruck im Gleichgewicht steht (für 5 % CO_2 ist das Mischungsverhältnis bei 38 Grad C 79 : 21). Zu 2,9 ml Puffer gibt man noch 2 mg Karboanhydrase, gelöst in o,1 ml Wasser, zu. Dieser Puffer bindet bis auf einen kleinen, in methodischen Vorversuchen bestimmbaren Rest das beim Stoffwechsel gebildete CO_2.

Im Gefäß I mißt man also die Differenz aus Druckzunahme (CO_2-Bildung) und Druckabnahme (O_2-Verbrauch). Im Gefäß II mißt man dagegen die durch den O_2-Verbrauch

verursachte Druckabnahme. Unter der Annahme eines annähernd homogenen Materials und damit gleichen Stoffwechsels in beiden Gefäßen kann man aus den Druckänderungen in den Systemen I und II mit 2 Gleichungen die beiden Unbekannten X_{O_2} und X_{CO_2} berechnen. Voraussetzung ist jedoch, daß vor der rechnerischen Auswertung die Druckänderungen aller Systeme auf 1 mg Trockensubstanz umgerechnet werden.

Die Auswertung geschieht nach folgenden Formeln:

$$X_{O_2} = \Delta H \cdot \frac{K^R_{CO_2}}{\frac{K^R_{CO_2}}{K_{O_2}} - \frac{K'^R_{CO_2}}{K'_{O_2}}} - \Delta H' \cdot \frac{K'^R_{CO_2}}{\frac{K^R_{CO_2}}{K_{O_2}} - \frac{K'^R_{CO_2}}{K'_{O_2}}}$$

$$X_{CO_2} = \Delta H \cdot \frac{K_{O_2}}{\frac{K_{O_2}}{K^R_{CO_2}} - \frac{K'_{O_2}}{K'^R_{CO_2}}} - \Delta H' \cdot \frac{K'_{O_2}}{\frac{K_{O_2}}{K^R_{CO_2}} - \frac{K'_{O_2}}{K'^R_{CO_2}}}$$

Hierbei sind K_{O_2} und $K^R_{CO_2}$ die Gefäßkonstanten, die nach folgender Formel berechnet werden:

$$K = \frac{V_G \cdot \frac{273}{311} + V_F \cdot \alpha}{1o}$$

ΔH und $\Delta H'$ sind die Druckänderungen im System I und II (der Zusatz "'" bedeutet: System II), V_G = Volumen des Gasraumes, V_F = Volumen der Flüssigkeit, α = Bunsenscher Absorptionskoeffizient. Der Zusatz "R" bedeutet, daß die Konstanten beider Gefäße mit der Retention der "K-Lösung" (o,o3 mm^3 / ml Lösung und mm Brodie) und die der Gefäße II mit der Retention des $KHCO_3$ - K_2CO_3 - Puffers (bei der Begasung mit 4 % CO_2 : 12,82 mm^3 CO_2 / ml Puffer und mm Brodie, bei der Begasung mit 5 % CO_2 : 9,16 mm^3 CO_2 / ml Puffer und mm Brodie, bei der Begasung mit 6,3 % CO_2 : 6,66 mm^3 CO_2 / ml Puffer und mm Brodie) berücksichtigt: $K^R_{CO_2} = K_{CO_2} + V_P \cdot R$ (V_P = Volumen des Puffers).

Wenn man immer die gleichen Gefäße mit den gleichen Manometern kombiniert und gleiche Flüssigkeitsmengen einfüllt, kann man die Gefäßkonstanten und die Brüche obiger Gleichungen tabellieren und kommt so zu folgenden einfacheren Formeln:

$$X_{O_2} = \Delta H \cdot A - \Delta H' \cdot B$$

$$X_{CO_2} = \Delta H \cdot C - \Delta H' \cdot D$$

Zur weiteren Vereinfachung wurde ein Computer-Programm entwickelt (LUDT und DITTMANN), das die gesamte Rechnung durchführt und folgende Zahlenwerte ausdruckt: X_{O_2}, X_{CO_2}, X_M, Q_{O_2}, Q_{CO_2} und Q_M. Hierbei bedeuten die X - Werte die Gasumsätze, ausgedrückt in mm^3 pro mg

Trockensubstanz, und die Q - Werte entstehen bei der Umrechnung der X - Werte auf 6o Minuten Versuchsdauer.

Die X_M - Werte geben die aerobe Milchsäurebildung an und lassen sich aus den X_{O_2} - und X_{CO_2} - Werten unter der Annahme eines respiratorischen Quotienten von 1 nach folgender Formel berechnen:

$$X_M = X_{CO_2} + X_{O_2} \quad (X_{O_2} \text{ mit negativem Vorzeichen}).$$

Praktisch geht man folgendermaßen vor:

Der Hauptraum aller Gefäße enthält 3 ml "K-Lösung", wenn während des Versuches keine Substanz zugesetzt werden soll. Bei beabsichtigter Zugabe von Substanzen enthält der Hauptraum 2,7 ml "K-Lösung", während o,3 ml "K-Lösung" mit den darin gelösten Wirkstoffen in die Birne eingefüllt werden. Der große Anhänger der Gefäße enthält Wasser (Gefäß I) bzw. Karbonat - Bikarbonat - Puffer mit Karboanhydrase (Gefäß II).

Nach Einfüllen der Hirnschnitte werden die Gefäße an den Manometern befestigt, wobei die Schliffe mit einem Gemisch aus Kolophonium und Adeps Lanae abgedichtet werden. Mit geöffneten Hähnen und Kapillarstopfen werden die Gefäße im Thermostaten von 38 Grad C hängend 1o Minuten lang mit dem Gasgemisch durchströmt, unter dem später gemessen werden soll. Dabei wird mit einer Frequenz von zirka 3o pro Minute geschüttelt; nach Schließen der Hähne wird die Schüttelfrequenz während der Messung auf 8o pro Minute gehalten.

Nach Beendigung der Inkubation werden die Suspensionen der Schnitte mit leicht gekrümmten Glasrohren und Gummisaugern vollständig aus den Gefäßen in Zentrifugengläser überführt und 1o Minuten lang bei zirka 3ooo·g zentrifugiert. Die Überstände werden in andere Gefäße abgegossen und zur späteren chemischen Untersuchung bei -4o Grad C eingefroren und gelagert.

3.2.2. TROCKENSUBSTANZ-BESTIMMUNG:

Der Wassergehalt des Hirngewebes vor dem WARBURG-Versuch wurde, wie auf Seite 18 angegeben, an einem Stück Hirngewebe ermittelt, das nicht geschnitten und nicht später inkubiert wurde.

Nach Dekantieren der überstehenden "K-Lösung" von den abzentrifugierten Schnitten wurden die Gläser weiterhin mit der Öffnung schräg nach unten gehalten, ihre Wandungen wurden mit einem Zellstofftupfer bis dicht an die Schnitte abgetrocknet.

Die Hirnproben vor dem Versuch und nach dem Versuch wurden bis zum nächsten Tag bei 1o5 Grad C getrocknet. Nach Abkühlen im Exsikkator über Blaugel wurde gewogen. Aus Frisch- und Trockengewicht wurde der Wassergehalt des Hirngewebes berechnet, ausgedrückt in % des Gesamtgewichtes.

3.2.3. GLUKOSE-BESTIMMUNG:

Glukose wurde mit der enzymatischen Methode bestimmt, die von BOEHRINGER Mannheim für die Testpackungen zur Bestimmung der Glukose im Blut angegeben wird. Dabei wird Glukose zunächst mit ATP und Hexokinase phosphoryliert, das gebildete Glukose-6-phosphat wird mit NADP und Glukose-6-phosphat-Dehydrogenase zu 6-Phosphoglukonat oxydiert; die Bildung von NADPH wird optisch durch Verfolgung des Extinktionsanstiegs bei 334 nm gemessen.

Um Zeit und Material zu sparen, wird für alle durchzuführenden Bestimmungen nur eine Enteiweißung jeder Probe gemacht.

Dabei werden zu 1,o ml Probe

4,o ml o,165 M kalte $HClO_4$ gegeben.

Nach mehrstündigem Stehen im Kühlschrank wird eine gekühlte Lösung von 3,o ml 1,1 M K_2HPO_4 zugegeben. Nach Stehenlassen über Nacht werden die Niederschläge von denaturiertem Eiweiß und Kaliumperchlorat 1o Minuten lang bei 3ooo·g abzentrifugiert.

Zur Bestimmung von Glukose werden in eine Küvette von 1 cm Schichtdicke gegeben:

2,6o ml Triäthanolaminpuffer, o,3 M, p_H 7,5 mit 4 mM $MgSO_4$

o,2o ml enteiweißte Probe

o,1o ml 12 mM NADP

o,1o ml 16 mM ATP

Nach sorgfältigem Durchmischen mit einem Plastikspatel wird die Extinktion bei 334 nm abgelesen. Die Reaktion wird durch Zufügen von

o,o2 ml eines Enzymgemisches mit 1 mg Hexokinase und 2 mg Glukose-6-phosphat-Dehydrogenase pro ml gestartet. Nach 3o Minuten wird die Extinktion bei 334 nm wiederum abgelesen.

3.2.4. LAKTAT-BESTIMMUNG:

Laktat wird ebenfalls nach einer Vorschrift von BOEHRINGER Mannheim enzymatisch bestimmt. Hierbei wird Laktat mit NAD und LDH zu Pyruvat und NADH umgesetzt. Aus der Extinktionszunahme bei 334 nm wird die Laktatkonzentration der Proben berechnet.

In eine Küvette von 1 cm Schichtdicke werden gegeben:

2,oo ml Glyzinpuffer, o,5 M, p_H 9,o mit o,4 M Hydrazin

o,2o ml enteiweißte Probe

o,o3 ml Schweinemuskel-LDH mit 2 mg pro ml

o,2o ml 27 mM NAD

Der Zusatz von Hydrazin zum Reaktionsgemisch hat den Sinn, das gebildete Pyruvat als Hydrazon abzufangen und so aus dem Reaktionsgemisch zu entfernen.

Bei den Leerwerten wird anstelle von Probe die gleiche Menge reiner "K-Lösung" eingesetzt. Nach sorgfältigem Mischen der Lösungen in den Küvetten werden die Ansätze

bei Raumtemperatur stehengelassen. Genau 6o Minuten nach Zugabe der NAD - Lösung wird in allen Ansätzen die Extinktion bei 334 nm gemessen.

3.2.5. PYRUVAT-BESTIMMUNG:

Pyruvat wird auch nach einer Vorschrift, die den Testpackungen von BOEHRINGER Mannheim beigegeben ist, enzymatisch bestimmt. Der Verbrauch von NADH bei der Inkubation der Proben in gepufferter Lösung mit LDH wird bei 334 nm optisch gemessen.

Wegen der geringen Pyruvatkonzentrationen werden die Proben nicht mit Puffer verdünnt, sondern direkt zur Bestimmung verwendet. Die auf Seite 24 beschriebene Enteiweißung ist so eingerichtet, daß am Ende eine Lösung mit einem p_H von zirka 7,6 vorliegt.

Weil die Extinktion auch nach Ablauf der LDH - Reaktion ständig sehr langsam weiter abnimmt, werden bei jeder Probe mehrere Ablesungen nach einem genauen Minutenplan durchgeführt, um von der insgesamt gemessenen Extinktionsänderung den "Schleich" subtrahieren zu können.

Im einzelnen wird folgendermaßen gearbeitet:

In eine Küvette von 1 cm Schichtdicke werden gegeben:

2,oo ml enteiweißte und zentrifugierte Probe

o,o5 ml 12 mM NADH

Nach sorgfältigem Mischen wird die Extinktion bei 334 nm abgelesen, und die Reaktion wird

durch Zugabe von

o,o5 ml Schweinemuskel-LDH mit o,75 mg pro ml gestartet.

Nach genau 5 Minuten und genau 1o Minuten werden die Extinktionen bei 334 nm wiederum abgelesen.

Als Leerwerte dienen Proben reiner "K-Lösung" ohne oder mit zugesetzten Zuckerphosphaten. Die Zuckerphosphate werden der "K-Lösung" jeweils in den gleichen Konzentrationen zugegeben wie den WARBURG-Gefäßen des gleichen Versuches.

Bei den letzten Versuchen der Serien wurden die Extinktionen nicht mehr einzeln abgelesen, sondern auf einem Schreiber laufend registriert, der an das Photometer "EPPENDORF" angeschlossen ist. Außerdem wurde die rechnerische Auswertung bei den letzten Versuchen der Serien nicht mehr handschriftlich, sondern auf einem CDC-Computer im Rechenzentrum Homburg der Universität Saarbrücken nach einem eigenen Programm (LUDT und DITTMANN) durchgeführt.

3.2.6. F-1,6-P_2 -BESTIMMUNG:

F-1,6-P_2 wird nach der Vorschrift von BÜCHER und HOHORST bestimmt. Hierbei wird F-1,6-P_2 mit Aldolase als Hilfsenzym in DAP + GAP aufgespalten. DAP wird durch NADH in Gegenwart des Hilfsenzyms Glyzerin-3-phosphat-Dehydrogenase zu Glyzerin-3-phosphat hydriert. Der Verbrauch von NADH wird bei 334 nm optisch ge-

messen.

Das neben dem DAP in äquimolekularer Menge gebildete GAP wird durch Zugabe des Hilfsenzyms Triosephosphat-Isomerase in DAP umgelagert. Auf diese Weise werden pro Mol F-1,6-P_2 2 Mol NADH umgesetzt; dadurch wird die Genauigkeit der Bestimmung wesentlich erhöht.

Um etwa in den Proben vorhandenes DAP und GAP zu erfassen, wird zunächst die Bestimmung dieser Triosephosphate selbst durchgeführt, erst anschließend wird Aldolase zugegeben.

Praktisch wird so vorgegangen:

In eine Küvette von 1 cm Schichtdicke werden gegeben:

2,6o ml o,1 M Triäthanolaminpuffer, p_H 7,5 mit 1,3 mM $MgSO_4$ (Puffer der Glukose-Testpackungen von BOEHRINGER Mannheim wird mit dem doppelten Volumen Wasser verdünnt)

o,1o ml enteiweißte und zentrifugierte Probe (Enteiweißung wie für die Bestimmung von Glukose, Laktat und Pyruvat)

Diese Mengen gelten für Versuche mit 1o mM F-1,6-P_2, bei Versuchen mit 5 mM F-1,6-P_2 werden 2,5o ml Puffer und o,2o ml Probe verwendet.

o,o5 ml 12 mM NADH.

Nach sorgfältigem Mischen wird zunächst die Extinktion bei 334 nm auf einem Schreiber zeitlich registriert. Dann wird die Reaktion durch Zugabe von

0,1o ml GDH/TIM (BOEHRINGER Mannheim, 1o mg pro ml mit dem neunfachen Volumen 1 M $(NH_4)_2SO_4$ verdünnt) gestartet.

Nach dem Stillstand der Extinktion werden

0,15 ml Aldolase (BOEHRINGER Mannheim, mit dem 99-fachen Volumen 1 M $(NH_4)_2SO_4$ verdünnt) zugegeben.

Nach sorgfältigem Durchmischen wird die Extinktion auf einem Schreiber bis zum endgültigen Stillstand zeitlich verfolgt.

3.2.7. TRIOSEPHOSPHAT-BESTIMMUNG:

Wie bei der Beschreibung der F-1,6-P_2 -Bestimmung bereits angedeutet, kann man in einem Arbeitsgang durch stufenweise Zugabe der einzelnen Hilfsenzyme DAP, GAP und F-1,6-P_2 nebeneinander bestimmen. Dieses Verfahren wurde bei einigen Versuchen angewandt.

Es wurde genau nach der unter 3.2.6. beschriebenen Methode gearbeitet. Die Hilfsenzyme wurden in folgender Reihenfolge zugeführt:

Nach Extinktions-Stillstand:

0,05 ml GDH (BOEHRINGER Mannheim, 1o mg pro ml mit dem neunfachen Volumen 1 M $(NH_4)_2SO_4$ verdünnt)

nach Mischen und erneutem Extinktions-Stillstand:

0,05 ml GDH/TIM (wie bei 3.2.6.)

nach Mischen und erneutem Extinktions-Stillstand:

o,15 ml Aldolase (wie bei 3.2.6.).

3.2.8. ELEKTROLYT-BESTIMMUNG:

Zur Bestimmung von Natrium und Kalium in getrockneten Hirnschnitten aus den manometrischen Versuchen werden die Proben feucht mit Digestin^{R} (MERCK-Nr. 876; = 1 molare Lösung von N-Äthyl-N-dodecyl-N,N-dimethylammoniumhydroxyd in Methanol) aufgeschlossen. Glukose und Glutaminsäure werden bei diesem Verfahren zerstört, Inulin und Saccharose bleiben jedoch erhalten und können im Aufschluß ebenfalls bestimmt werden.

Praktisch geht man folgendermaßen vor:

Die Hirnschnitte waren in graduierten Schliffröhrchen mit einem Volumen von 3 ml abzentrifugiert, von anhaftender Feuchtigkeit befreit, gewogen, getrocknet und wiederum gewogen worden. In jedes Röhrchen werden 1 ml verdünnte Digestin^{R}-Lösung (1 Volumen Digestin^{R} plus 4 Volumen Wasser) gegeben. Nach Verschließen der Röhrchen mit Schliffstopfen, die durch Stahlfedern befestigt sind, werden die Proben einige Stunden unter gelegentlichem Schütteln auf 7o Grad C erwärmt. Wenn sich eine nur noch ganz schwach getrübte Suspension kleiner nicht aufschließbarer Teilchen aus den Hirnschnitten entwickelt hat, läßt man abkühlen und füllt mit o,1 N HCl auf 2,5o ml auf.

Abhängig vom Trockensubstanzgewicht des Hirngewebes jedes Röhrchens werden mit 1 : 5oo verdünntem Netzmittel (Firma NETHELDR und HINZ) Verdünnungen der Aufschlüsse im Verhältnis 1 : 7,5 , 1 : 13 oder 1 : 2o (letztere bei mehr als 2o mg Trockensubstanz pro WARBURG-Gefäß) hergestellt. Ebenfalls mit 1 : 5oo verdünntem Netzmittel werden Standardlösungen aus NaCl und KCl zusammengestellt, die Natrium und Kalium in etwa den Konzentrationsverhältnissen enthalten, die in den getrockneten Hirnschnitten gefunden werden.

Die Na^+- und K^+-Konzentrationen der Aufschlüsse werden dann mit dem Flammenphotometer "EPPENDORF" unter Verwendung der Standardlösungen ermittelt und auf mVal pro kg Trockensubstanz umgerechnet.

3.2.9. INULIN-BESTIMMUNG:

Ein Teil der mit HCl aufgefüllten Digestin^R-Aufschlüsse für die Elektrolyt-Bestimmung (siehe 3.2.8.) wird zur völligen Befreiung von Trübungen auf kleine Säulen gegeben, die man sich folgendermaßen herstellt: "Einmalspritzen" von 2 ml Volumen werden unten mit einer dünnen festen Schicht aus Perlonwatte ausgelegt, darauf kommt eine Schicht von zirka 1 ml in der Spritze festgepreßtem Kieselgel nach STAHL. Im Verlauf von mindestens 6 bis 8 Stunden erhält man ein klares Filtrat, das direkt zur Bestimmung von Inulin verwendet wird.

Zu o,25 ml Probe gibt man 2,5o ml einer Lösung aus

3oo mg Anthron in 1oo ml 75 %iger H_2SO_4 und erwärmt nach gründlichem Umschütteln 1o Minuten lang im Wasserbad auf 56 Grad C. Nach Abkühlen in kaltem Wasser auf zirka 15 Grad C wird bei der Wellenlänge 578 nm in Küvetten von 1 cm Schichtdicke photometriert.

Als Standard verwendet man einen Aufschluß, der in völlig analoger Weise aufgearbeitet wurde wie die Proben. Für diese Standards wurden o,1o bzw. o,2o ml "K-Lösung" mit 1oo mg Inulin pro 1oo ml (gleiche "K-Lösung" wie für die Inkubationen verwendet) zusammen mit den Proben mehrere Stunden bei 1o5 Grad C getrocknet.

4. DARSTELLUNG DER EIGENEN BEFUNDE:

Die Ergebnisse aller Versuche sind in den folgenden Tabellen zusammengefaßt.

4.1. WASSERGEHALT VOR und NACH VERSUCH, SCHWELLUNG:

Diese Tabelle beinhaltet folgende Werte:

1. Wassergehalt der Hirnschnitte vor der Inkubation, in % angegeben (in der Tabelle mit "vor" gekennzeichnet).
2. Wassergehalt der Kortexschnitte nach der Inkubation, ebenfalls in % gemessen (in der Tabelle mit "nach" bezeichnet).
3. Wassereinlagerung in das Hirngewebe während der Dauer der Stoffwechselmessung; Dimension: µl Wasser pro 100 mg Anfangsfrischgewicht der Hirnschnitte (in der Tabelle unter "Schw." aufgeführt).

Die Veränderungen dieser drei Kriterien durch Zugabe der verschiedenen Substanzen zu den inkubierten Hirnschnitten wird in der folgenden Tabelle ausgedrückt.

Vers.-Nr.		Zugabe	vor	nach	Schw.
1	G:	Kontrolle	79,1	89,8	1o5 ± 1
		5 mM Sorbit		89,7	1o3 ± 5
	Ö:	Kontrolle	81,8	9o,1	84 ± 3
		5 mM Sorbit		9o,1	84 ± 3
2	G:	Kontrolle	78,2	88,8	96 ± 4
		1o mM Sorbit		88,8	95 ± 3
	Ö:	Kontrolle	8o,2	89,2	83 ± o
		1o mM Sorbit		88,9	79 ± 6
3	G:	Kontrolle	76,9	88,5	1o1 ± 4
		6,5 mM Glukose		88,7	1o5 ± 1
	Ö:	Kontrolle	81,5	89,9	83 ± 3
		6,5 mM Glukose		89,5	77 ± 2
4	G:	Kontrolle	8o,5	89,4	85 ± o
		1o mM Glukose		89,8	93 ± 2
	Ö:	Kontrolle	81,4	89,8	83 ± 6
		1o mM Glukose		89,9	84 ± o
5	G:	Kontrolle	79,3	88,2	76 ± 5
		15 mM Glukose		87,9	72 ± o
	Ö:	Kontrolle	8o,8	88,6	69 ± 8
		15 mM Glukose		87,8	57 ± 3
6	Ö:	Kontrolle	8o,9	9o,2	96 ± 3
		2o mM Glukose		9o,o	91 ± 2

Vers.-Nr.		Zugabe	vor	nach	Schw.
7	G:	Kontrolle	77,5	87,9	87 ± 4
		5 mM G-1-P, Na		87,7	83 ± 3
	Ö:	Kontrolle	79,3	88,6	82 ± 2
		5 mM G-1-P, Na		88,2	76 ± 3
8	G:	Kontrolle	77,8	89,2	1o5 ± 4
		2 mM G-6-P, Na		89,2	1o5 ± 5
	Ö:	Kontrolle	81,7	89,8	79 ± 2
		2 mM G-6-P, Na		89,7	77 ± 2
9	G:	Kontrolle	77,8	89,2	1o3 ± 5
		5 mM G-6-P, Na		88,3	9o ± o
	Ö:	Kontrolle	8o,7	89,o	76 ± o
		5 mM G-6-P, Na		88,7	72 ± 6
1o	G:	Kontrolle	78,5	88,5	87 ± o
		1o mM G-6-P, Na		87,8	76 ± o
	Ö:	Kontrolle	8o,o	89,o	82 ± 7
		1o mM G-6-P, Na		88,6	75 ± 3
11	G:	Kontrolle	78,7	88,7	88 ± o
		1o mM F-1-P, Na		88,o	77 ± 1
	Ö:	Kontrolle	8o,o	88,9	8o ± 1
		1o mM F-1-P, Na		88,3	71 ± 6
12	G:	Kontrolle	79,3	89,1	91 ± 3
		5 mM F-6-P, Na		89,o	89 ± o
	Ö:	Kontrolle	81,3	89,7	82 ± 1
		5 mM F-6-P, Na		89,o	71 ± 6

Vers.-Nr.		Zugabe	vor	nach	Schw.
13	G:	Kontrolle	8o,7	89,6	87 ± 5
		1o mM F-6-P, Na		88,5	69 ± 3
	Ö:	Kontrolle	8o,5	89,5	87 ± o
		1o mM F-6-P, Na		88,8	74 ± 2
14	G:	Kontrolle	78,6	89,4	1o3 ± 4
		1o mM F-6-P, Na		87,8	77 ± 2
	Ö:	Kontrolle	81,6	89,9	83 ± 5
		1o mM F-6-P, Na		88,1	56 ± 6
15		Kontrolle	8o,5	89,3	82 ± 2
		1,6 mM F-1,6-P_2, Na		89,3	82 ± 1
16	G:	Kontrolle	8o,3	89,2	83 ± o
		2 mM F-1,6-P_2, Na		89,1	81 ± 1
	Ö:	Kontrolle	81,1	89,5	81 ± 3
		2 mM F-1,6-P_2, Na		89,o	71 ± 3
17	G:	Kontrolle	79,7	89,5	94 ± 4
		2 mM F-1,6-P_2, Na		89,4	92 ± 4
	Ö:	Kontrolle	8o,9	89,7	86 ± 3
		2 mM F-1,6-P_2, Na		89,2	78 ± 4
18	G:	Kontrolle	78,5	88,9	94 ± 3
		5 mM F-1,6-P_2, Na		88,5	87 ± 2
	Ö:	Kontrolle	81,5	89,6	79 ± 3
		5 mM F-1,6-P_2, Na		88,9	67 ± 2

Vers.-Nr.	Zugabe	vor	nach	Schw.
19	Kontrolle	79,5	89,8	1oo ± 4
	5 mM F-1,6-P_2, Na		88,9	84 ± 2
2o	Kontrolle	79,5	89,4	94 ± o
	5 mM F-1,6-P_2, Na		88,8	83 ± 3
21	Kontrolle	81,4	88,4	59 ± 1
	5 mM F-1,6-P_2, Na		87,9	53 ± 3
22	Kontrolle	82,7	9o,o	73 ± 3
	5 mN F-1,6-P_2, Na		89,2	6o ± 1
	5 mM F-1,6-P_2, Ca		88,7	53 ± o
23	Kontrolle	79,5	89,5	95 ± 8
	5 mM F-1,6-P_2, Na		88,8	83 ± 2
	5 mM F-1,6-P_2, Ca		88,1	73 ± o
	5 mM Ca^{2+}		89,1	88 ± 6
	5 mM PO_4^{3-}		88,9	84 ± 1
24	Kontrolle	79,5	9o,4	113 ± 2
	5 mM F-1,6-P_2, Na		89,4	93 ± 2
	1o mM Fruktose		9o,2	11o ± 2
	6 mM PO_4^{3-}		9o,o	1o6 ± 2
	5 mM Fruktose + 3 mM PO_4^{3-}		89,9	1o4 ± 3

Vers.-Nr.		Zugabe	vor	nach	Schw.
25		Kontrolle	79,5	89,5	95 ± 3
		5 mM F-1,6-P_2, Na		89,o	86 ± o
		1,5 mM GAP		89,3	92 ± o
		1,5 mM DAP		89,4	93 ± 1
		1,5 mM GAP + 1,5 mM DAP		88,7	93 ± 1
26	G:	Kontrolle	8o,9	89,o	74 ± 3
		1o mM F-1,6-P_2, Na		87,6	54 ± 2
	Ö:	Kontrolle	8o,9	89,6	84 ± 5
		1o mM F-1,6-P_2, Na		88,8	7o ± 2
27		Kontrolle	79,5	89,3	91 ± 2
		1o mM F-1,6-P_2, Na		88,1	72 ± o
28		Kontrolle	82,5	9o,o	75 ± 3
		1o mM F-1,6-P_2, Na		88,5	52 ± 1
29		Kontrolle	83,o	89,3	58 ± 1
		1o mM F-1,6-P_2, Na		88,o	41 ± 1
3o		Kontrolle	81,1	89,4	79 ± 3
		1o mM F-1,6-P_2, Na		88,5	65 ± o
31		Kontrolle	81,4	88,4	59 ± 1
		1o mM F-1,6-P_2, Na		86,6	39 ± o
32		Kontrolle	8o,8	89,6	85 ± 1
		1o mM F-1,6-P_2, Na		88,2	63 ± 1
		1o mM F-1,6-P_2, Ca		87,5	53 ± 3

4.2. GASSTOFFWECHSEL:

Diese Tabelle repräsentiert Sauerstoff-Verbrauch, Gesamt-Kohlendioxyd-Bildung und Kohlendioxyd-Freisetzung, die durch die Milchsäure-Bildung der Hirnschnitte bedingt ist.

Dimension: mm^3 Gas pro mg Trockensubstanz und Stunde.

Für die Zeit vor Zugabe der verschiedenen Substanzen sind Mittelwerte angegeben. Die Q - Werte der inkubierten Kortexschnitte mit und ohne Zukippen der Substanzen werden in der Tabelle aufgeführt.

Vers.-Nr.	Zugabe	Zeit	Q_{O_2}	Q_{CO_2}	Q_M
1	G: Kontrolle	$\bar{Q}$ o-3o' vor	-6,09 ± o,21	8,28 ± o,2o	2,19 ± o,o1
		3o-7o' nach	-5,1	6,4	1,3
		7o-13o'nach	-6,4	7,2	o,7
	5 mM Sorbit	3o-7o' nach	-5,4	6,8	1,4
		7o-13o'nach	-5,3	6,5	1,2
	Ö: Kontrolle	$\bar{Q}$ o-3o' vor	-6,29 ± o,25	9,5o ± o,68	3,2o ± o,44
		3o-7o' nach	-5,7	7,4	1,7
		7o-13o'nach	-6,7	8,2	1,5
	5 mM Sorbit	3o-7o' nach	-5,9	8,o	2,2
		7o-13o'nach	-6,o	7,7	1,7
2	G: Kontrolle	$\bar{Q}$ o-3o' vor	-5,35 ± o,51	6,94 ± o,16	1,59 ± o,35
		3o-7o' nach	-4,4	5,8	1,3
		7o-13o'nach	-4,8	6,4	1,6
	1o mM Sorbit	3o-7o' nach	-4,8	5,8	o,9
		7o-13o'nach	-4,6	6,o	1,5

Vers.-Nr.		Zugabe	Zeit	Q_{O_2}	Q_{CO_2}	Q_M
Forts.	Ö:	Kontrolle	$\bar{Q}$ o-3o' vor	-5,o3 ± o,37	6,79 ± o,o9	1,76 ± o,28
2			3o-7o' nach	-5,o	6,5	1,5
			7o-13o'nach	-5,2	6,9	1,7
		1o mM Sorbit	3o-7o' nach	-4,9	6,1	1,1
			7o-13o'nach	-4,6	5,7	1,1
3	G:	Kontrolle	$\bar{Q}$ o-3o' vor	-3,91 ± o,o5	5,5o ± o,3o	1,59 ± o,25
			3o-7o' nach	-3,3	4,2	o,8
			7o-13o'nach	-3,o	3,6	o,5
		6,5 mM Glukose	3o-7o' nach	-3,7	5,2	1,5
			7o-13o'nach	-4,o	5,6	1,5
	Ö:	Kontrolle	$\bar{Q}$ o-3o' vor	-4,74 ± o,1o	7,o8 ± o,o6	2,52 ± o,14
			3o-7o' nach	-4,2	5,5	1,3
			7o-13o'nach	-4,3	5,2	o,9
		6,5 mM Glukose	3o-7o' nach	-4,3	7,3	3,o
			7o-13o'nach	-4,4	6,9	2,5

Vers.-Nr.	Zugabe	Zeit	Q_{O_2}	Q_{CO_2}	Q_M
4	G: Kontrolle	$\bar{Q}$ o-3o' vor	-4,46 ± o,34	7,o3 ± o,73	2,58 ± o,38
		3o-7o' nach	-4,1	5,8	1,8
		7o-13o'nach	-3,6	5,3	1,7
	1o mM Glukose	3o-7o' nach	-4,o	5,9	1,9
		7o-13o'nach	-3,3	5,6	2,2
	Ö: Kontrolle	$\bar{Q}$ o-3o' vor	-4,41 ± o,43	7,65 ± o,o3	3,25 ± o,45
		3o-7o' nach	-4,8	7,4	2,6
		7o-13o'nach	-4,1	7,o	2,9
	1o mM Glukose	3o-7o' nach	-4,o	7,4	3,3
		7o-13o'nach	-3,8	7,4	3,7
5	G: Kontrolle	$\bar{Q}$ o-3o' vor	-4,48 ± o,34	6,34 ± o,o2	1,87 ± o,37
		3o-7o' nach	-4,1	5,6	1,5
		7o-13o'nach	-3,8	5,4	1,6
	15 mM Glukose	3o-7o' nach	-2,7	4,3	1,6
		7o-13o'nach	-2,1	3,8	2,o

Vers.-Nr.		Zugabe	Zeit	Q_{O_2}	Q_{CO_2}	Q_M
Forts.	♂:	Kontrolle	$\bar{Q}$ o-3o′ vor	-4,39 ± o,63	5,87 ± o,41	1,49 ± o,23
5			3o-7o′ nach	-4,8	6,3	1,6
			7o-13o′nach	-4,2	6,4	2,2
		15 mM Glukose	3o-7o′ nach	-3,7	5,1	1,4
			7o-13o′nach	-3,5	5,5	2,o
6	G:	Kontrolle	$\bar{Q}$ o-3o′ vor	-4,17 ± o,31	7,52 ± o,52	3,35 ± o,21
			3o-7o′ nach	-4,4	6,8	2,5
			7o-13o′nach	-4,4	6,6	2,3
		2o mM Glukose	3o-7o′ nach	-4,o	5,6	1,7
			7o-13o′nach	-3,5	5,5	2,o
	♂:	Kontrolle	$\bar{Q}$ o-3o′ vor	-4,7o ± o,26	7,99 ± o,37	3,3o ± o,1o
			3o-7o′ nach	-4,1	6,4	2,3
			7o-13o′nach	-4,3	6,4	2,1
		2o mM Glukose	3o-7o′ nach	-5,1	7,7	2,6
			7o-13o′nach	-4,7	8,o	3,2

Vers.-Nr.		Zugabe	Zeit	Q_{O_2}	Q_{CO_2}	Q_M
7	G:	Kontrolle	$\bar{Q}$ o-3o' vor	-4,14 ± o,26	5,56 ± o,1o	1,42 ± o,36
			3o-7o' nach	-3,5	4,9	1,4
			7o-13o' nach	-4,2	5,o	o,8
		5 mM G-1-P, Na	3o-7o' nach	-3,7	4,6	o,8
			7o-13o' nach	-4,1	5,2	1,o
	Ö:	Kontrolle	$\bar{Q}$ o-3o' vor	-3,73 ± o,o5	5,64 ± o,32	1,91 ± o,37
			3o-7o' nach	-3,2	5,o	1,8
			7o-13o' nach	-4,2	5,6	1,4
		5 mM G-1-P, Na	3o-7o' nach	-4,1	5,8	1,7
			7o-13o' nach	-3,5	4,7	1,2
8	G:	Kontrolle	$\bar{Q}$ o-3o' vor	-3,93 ± o,o5	5,23 ± o,25	1,31 ± o,29
			3o-7o' nach	-3,9	5,5	1,6
			7o-13o' nach	-3,6	4,6	1,o
		2 mM G-6-P, Na	3o-7o' nach	-3,1	4,6	1,5
			7o-13o' nach	-3,3	4,8	1,5

Vers.-Nr.		Zugabe	Zeit	Q_{O_2}	Q_{CO_2}	Q_M
Forts.	Ö:	Kontrolle	$\bar{Q}$ o-3o' vor	-4,67 ± o,o9	6,26 ± o,o6	1,59 ± o,15
8			3o-7o' nach	-4,7	5,9	1,2
			7o-13o' nach	-4,2	5,2	1,o
		2 mM G-6-P, Na	3o-7o' nach	-3,5	5,2	1,7
			7o-13o' nach	-4,o	6,2	2,2
9	G:	Kontrolle	$\bar{Q}$ o-3o' vor	-4,62 ± o,o2	6,48 ± o,38	1,86 ± o,36
			3o-7o' nach	-4,5	5,7	1,3
			7o-13o' nach	-4,1	4,8	o,6
		5 mM G-6-P, Na	3o-7o' nach	-5,3	6,8	1,5
			7o-13o' nach	-4,5	5,3	o,8
	Ö:	Kontrolle	$\bar{Q}$ o-3o' vor	-4,36 ± o,o2	6,57 ± o,23	2,2o ± o,22
			3o-7o' nach	-5,1	7,5	2,5
			7o-13o' nach	-4,5	5,5	1,1
		5 mM G-6-P, Na	3o-7o' nach	-5,o	7,4	2,4
			7o-13o' nach	-4,1	5,5	1,4

Vers.-Nr.	Zugabe	Zeit	Q_{O_2}	Q_{CO_2}	Q_M
1o	G: Kontrolle	$\bar{Q}$ o-3o' vor	-4,09 ± o,17	5,52 ± o,2o	1,43 ± o,o3
		3o-7o' nach	-4,2	5,5	1,2
		7o-13o' nach	-4,1	5,7	1,7
	1o mM G-6-P, Na	3o-7o' nach	-3,9	5,1	1,2
		7o-13o' nach	-3,8	4,5	o,7
	Ö: Kontrolle	$\bar{Q}$ o-3o' vor	-4,49 ± o,49	6,33 ± 1,33	1,84 ± o,84
		3o-7o' nach	-4,4	6,1	1,7
		7o-13o' nach	-4,7	6,6	1,9
	1o mM G-6-P, Na	3o-7o' nach	-5,1	7,7	2,6
		7o-13o' nach	-5,4	7,4	2,o
11	G: Kontrolle	$\bar{Q}$ o-3o' vor	-5,1o ± o,4o	7,o9 ± o,45	1,98 ± o,o6
		3o-7o' nach	-4,7	6,3	1,6
		7o-13o' nach	-4,8	6,2	1,4
	1o mM F-1-P, Na	3o-7o' nach	-5,9	7,7	1,8
		7o-13o' nach	-5,7	7,3	1,6

Vers.-Nr.		Zugabe	Zeit	Q_{O_2}	Q_{CO_2}	Q_M
Forts.	Ö:	Kontrolle	$\bar{Q}$ o-3o' vor	-5,64 ± o,32	7,96 ± o,18	2,32 ± o,14
11			3o-7o' nach	-4,9	6,9	2,o
			7o-13o' nach	-5,2	7,1	1,9
		1o mM F-1-P, Na	3o-7o' nach	-6,1	8,3	2,2
			7o-13o' nach	-5,4	7,6	2,1
12	G:	Kontrolle	$\bar{Q}$ o-3o' vor	-4,59 ± o,29	6,65 ± o,19	2,o6 ± o,1o
			3o-7o' nach	-4,8	7,o	2,2
			7o-13o' nach	-4,5	6,4	1,9
		5 mM F-6-P, Na	3o-7o' nach	-5,3	7,7	2,4
			7o-13o' nach	-4,9	6,6	1,7
	Ö:	Kontrolle	$\bar{Q}$ o-3o' vor	-5,15 ± o,o9	8,99 ± o,21	3,84 ± o,12
			3o-7o' nach	-5,6	9,1	3,5
			7o-13o' nach	-5,6	9,1	3,5
		5 mM F-6-P, Na	3o-7o' nach	-5,9	9,6	3,7
			7o-13o' nach	-5,5	9,o	3,5

Vers.-Nr.		Zugabe	Zeit	Q_{O_2}	Q_{CO_2}	Q_M
13	G:	Kontrolle	$\bar{Q}$ o-3o' vor	-5,57 ± o,71	8,5o ± o,88	2,93 ± o,17
			3o-7o' nach	-4,7	7,3	2,6
			7o-13o'nach	-4,7	7,3	2,6
		1o mM F-6-P, Na	3o-7o' nach	-4,8	7,4	2,7
			7o-13o'nach	-4,5	6,7	2,3
	Ö:	Kontrolle	$\bar{Q}$ o-3o' vor	-4,46 ± 1,oo	6,82 ± 1,74	2,36 ± o,74
			3o-7o' nach	-4,5	7,7	3,2
			7o-13o'nach	-4,7	7,9	3,2
		1o mM F-6-P, Na	3o-7o' nach	-5,1	8,2	3,1
			7o-13o'nach	-5,o	7,6	2,6
14	G:	Kontrolle	$\bar{Q}$ o-3o' vor	-5,19 ± o,51	7,67 ± o,27	2,48 ± o,24
			3o-7o' nach	-5,3	7,5	2,2
			7o-13o'nach	-5,2	7,4	2,1
		1o mM F-6-P, Na	3o-7o' nach	-6,2	8,3	2,2
			7o-13o'nach	-5,9	7,5	1,7

Vers.-Nr.		Zugabe	Zeit	Q_{O_2}	Q_{CO_2}	Q_M
Forts.	Ö:	Kontrolle	$\bar{Q}$ o-3o' vor	-5,57 ± o,35	8,21 ± o,o9	2,65 ± o,27
14			3o-7o' nach	-6,3	9,2	2,9
			7o-13o' nach	-5,5	8,5	3,o
		1o mM F-6-P, Na	3o-7o' nach	-5,7	8,1	2,4
			7o-13o' nach	-5,5	7,5	2,o
15		Kontrolle	$\bar{Q}$ o-3o' vor	-6,2o ± o,o4	8,41 ± o,o4	2,21 ± o,oo
			3o-6o' nach	-7,8	8,o	o,2
		1,6 mM F-1,6-P_2, Na	3o-6o' nach	-8,4	8,8	o,4
16	G:	Kontrolle	$\bar{Q}$ o-3o' vor	-5,78 ± o,1o	7,62 ± o,12	1,84 ± o,22
			3o-7o' nach	-5,4	6,4	1,o
			7o-13o' nach	-4,8	6,5	1,7
		2 mM F-1,6-P_2, Na	3o-7o' nach	-5,5	7,2	1,7
			7o-13o' nach	-5,2	7,2	2,o

Vers.-Nr.		Zugabe	Zeit	Q_{O_2}	Q_{CO_2}	Q_M
Forts. 16	Ö:	Kontrolle	$\bar{Q}$ o-3o' vor	-5,58 ± o,o4	9,18 ± o,14	3,6o ± o,18
			3o-7o' nach	-5,1	8,7	3,6
			7o-13o' nach	-5,1	7,7	2,6
		2 mM F-1,6-P_2, Na	3o-7o' nach	-5,2	9,1	3,9
			7o-13o' nach	-5,o	8,1	3,1
17	G:	Kontrolle	$\bar{Q}$ o-3o' vor	-4,15 ± o,39	6,28 ± o,o2	2,13 ± o,37
			3o-7o' nach	-4,2	5,9	1,7
			7o-13o' nach	-3,8	4,9	1,1
		2 mM F-1,6-P_2, Na	3o-7o' nach	-4,6	7,o	2,4
			7o-13o' nach	-4,5	6,1	1,6
	Ö:	Kontrolle	$\bar{Q}$ o-3o' vor	-4,74 ± o,32	7,68 ± o,34	2,95 ± o,65
			3o-7o' nach	-4,6	6,6	2,o
			7o-13o' nach	-4,o	5,8	1,8
		2 mM F-1,6-P_2, Na	3o-7o' nach	-4,6	7,3	2,7
			7o-13o' nach	-4,3	6,1	1,8

Vers.-Nr.		Zugabe	Zeit	Q_{O_2}	Q_{CO_2}	Q_M
18	G:	Kontrolle	$\bar{Q}$ o-3o' vor	-3,93 ± o,o5	4,93 ± o,o5	1,oo ± o,oo
			3o-7o' nach	-4,1	5,8	1,7
			7o-13o' nach	-3,7	4,9	1,2
		5 mM F-1,6-P_2, Na	3o-7o' nach	-4,5	6,2	1,7
			7o-13o' nach	-4,o	5,5	1,4
	Ö:	Kontrolle	$\bar{Q}$ o-3o' vor	-4,85 ± o,17	6,33 ± o,55	1,57 ± o,27
			3o-7o' nach	-5,1	7,6	2,5
			7o-13o' nach	-4,5	6,3	1,8
		5 mM F-1,6-P_2, Na	3o-7o' nach	-5,6	8,5	2,9
			7o-13o' nach	-4,9	7,7	2,8
19		Kontrolle	$\bar{Q}$ o-3o' vor	-3,12 ± o,5o	6,11 ± o,41	2,99 ± o,o9
			5o-9o' nach	-4,6	6,8	2,2
			9o-13o' nach	-5,o	7,3	2,3
		5 mM F-1,6-P_2, Na	5o-9o' nach	-4,9	7,7	2,8
			9o-13o' nach	-5,7	8,5	2,9

Vers.-Nr.	Zugabe	Zeit	Q_{O_2}	Q_{CO_2}	Q_M
2o	Kontrolle	$\bar{Q}$ o-3o′ vor	-6,26 ± o,44	8,38 ± o,74	2,12 ± o,3o
		3o-7o′ nach	-4,8	6,6	1,8
		7o-13o′nach	-4,9	7,2	2,3
	5 mM F-1,6-P_2, Na	3o-7o′ nach	-6,4	9,o	2,6
		7o-13o′nach	-6,1	8,7	2,6
22	Kontrolle	$\bar{Q}$ o-3o′ vor	-4,46 ± o,o9	6,71 ± o,11	2,24 ± o,o6
		$\bar{Q}$ 5o-9o′ nach	-4,81 ± o,o7	6,52 ± o,11	1,71 ± o,18
		$\bar{Q}$ 9o-13o′nach	-4,95 ± o,o6	6,58 ± o,16	1,63 ± o,22
	5 mM F-1,6-P_2, Na	$\bar{Q}$ 5o-9o′ nach	-5,46 ± o,16	7,98 ± o,18	2,54 ± o,33
		$\bar{Q}$ 9o-13o′nach	-5,62 ± o,o2	7,98 ± o,19	2,37 ± o,16
	5 mM F-1,6-P_2, Ca	$\bar{Q}$ 5o-9o′ nach	-4,72 ± o,25	7,48 ± o,o2	2,76 ± o,27
		$\bar{Q}$ 9o-13o′nach	-5,13 ± o,21	7,5o ± o,63	2,37 ± o,42

Vers.-Nr.	Zugabe	Zeit	Q_{O_2}	Q_{CO_2}	Q_M
23	Kontrolle	$\bar{Q}$ o-3o' vor	-3,51 ± o,72	7,37 ± o,66	3,86 ± o,19
		5o-9o' nach	-6,o	8,1	2,1
		9o-13o' nach	-6,1	8,6	2,5
	5 mM F-1,6-P_2, Na	5o-9o' nach	-6,3	9,3	3,o
		9o-13o' nach	-5,4	9,1	3,7
	5 mM F-1,6-P_2, Ca	5o-9o' nach	-6,2	8,2	2,o
		9o-13o' nach	-6,2	8,6	2,4
	5 mM Ca^{2+}	5o-9o' nach	-5,7	7,6	1,9
		9o-13o' nach	-5,7	7,2	1,5
	5 mM PO_4^{3-}	5o-9o' nach	-5,9	9,7	3,7
		9o-13o' nach	-6,o	1o,8	4,7

Vers.-Nr.	Zugabe	Zeit	Q_{O_2}	Q_{CO_2}	Q_M
24	Kontrolle	$\bar{Q}$ o-3o' vor	-5,28 ± o,11	7,17 ± o,2o	1,88 ± o,14
		5o-9o' nach	-5,2	6,4	1,2
		9o-13o' nach	-5,5	6,1	o,7
	5 mM F-1,6-P_2, Na	5o-9o' nach	-5,7	7,8	2,1
		9o-13o' nach	-6,1	8,6	2,5
	1o mM Fruktose	5o-9o' nach	-5,4	7,2	1,8
		9o-13o' nach	-5,4	6,6	1,3
	6 mM PO_4^{3-}	5o-9o' nach	-6,5	7,7	1,2
		9o-13o' nach	-6,2	7,6	1,5
	5 mM Fruktose	5o-9o' nach	-5,4	6,9	1,5
	+ 3 mM PO_4^{3-}	9o-13o' nach	-5,8	7,3	1,5

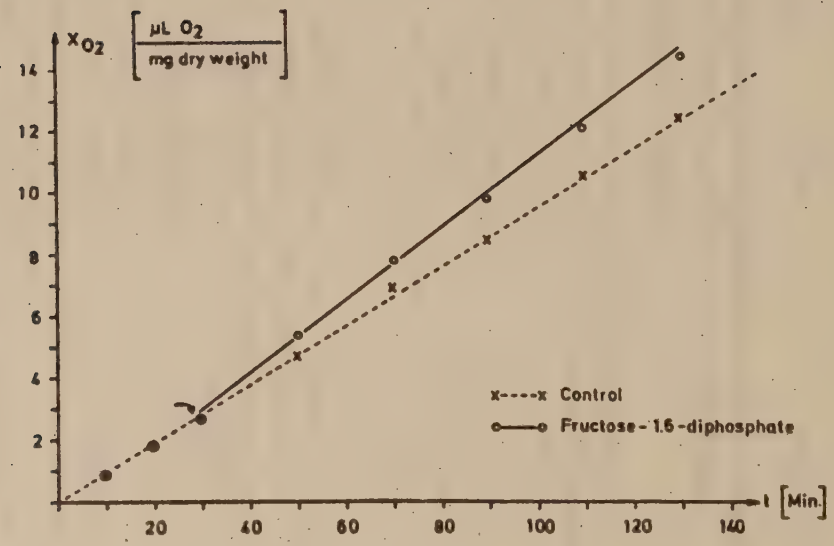
Vers.-Nr.	Zugabe	Zeit	Q_{O_2}	Q_{CO_2}	Q_M
25	Kontrolle	2o-5o' nach	-5,3	7,2	1,8
		5o-16o' nach	-4,7	5,7	1,1
	5 mM F-1,6-P_2, Na	2o-5o' nach	-5,9	8,o	2,1
		5o-16o' nach	-5,3	7,7	2,4
	1,5 mM DAP	2o-5o' nach	-5,7	7,7	2,1
		5o-16o' nach	-5,1	6,5	1,4
	1,5 mM DAP	2o-5o' nach	-9,5	13,4	3,9
	+ 1,5 mM GAP	5o-16o' nach	-4,9	6,6	1,7
26	G: Kontrolle	$\bar{Q}$ o-3o' vor	-4,94 ± o,22	6,96 ± o,3o	2,o2 ± o,o8
		3o-7o' nach	-5,1	7,o	2,o
		7o-13o' nach	-5,o	6,9	1,9
	1o mM F-1,6-P_2, Na	3o-7o' nach	-5,9	9,4	3,5
		7o-13o' nach	-5,2	8,2	3,o

Vers.-Nr.	Zugabe	Zeit	Q_{O_2}	Q_{CO_2}	Q_M
Forts. Ö:	Kontrolle	$\bar{Q}$ o-3o' vor	-5,36 ± o,o6	8,23 ± o,45	2,87 ± o,39
26		3o-7o' nach	-5,1	7,7	2,6
		7o-13o'nach	-5,1	7,7	2,6
	1o mM F-1,6-P_2, Na	3o-7o' nach	-6,2	1o,1	3,8
		7o-13o'nach	-6,o	9,2	3,2
27	Kontrolle	$\bar{Q}$ o-3o' vor	-5,13 ± o,34	8,1o ± o,44	2,97 ± o,12
		$\bar{Q}$ 3o-7o' nach	-5,5o ± o,53	8,o1 ± o,96	2,52 ± o,43
		$\bar{Q}$ 7o-13o'nach	-5,64 ± o,59	7,86 ± o,93	2,22 ± o,34
	1o mM F-1,6-P_2, Na	$\bar{Q}$ 3o-7o' nach	-5,92 ± o,56	9,22 ± o,74	3,29 ± o,17
		$\bar{Q}$ 7o-13o'nach	-5,63 ± o,63	8,31 ± o,68	2,68 ± o,o6
28	Kontrolle	$\bar{Q}$ o-3o' vor	-5,99 ± o,o4	7,84 ± o,27	1,85 ± o,23
		3o-6o' nach	-5,6	7,2	1,6
	1o mM F-1,6-P_2, Na	3o-6o' nach	-6,7	8,8	2,1

Vers.-Nr.	Zugabe	Zeit	Q_{O_2}	Q_{CO_2}	Q_M
29	Kontrolle	$\bar{Q}$ o-3o′ vor	-5,71 ± o,13	5,93 ± o,15	o,22 ± o,o2
		3o-6o′ nach	-5,9	6,6	o,7
	1o mM F-1,6-P_2, Na	3o-6o′ nach	-7,5	8,5	1,o
3o	Kontrolle	$\bar{Q}$ o-3o′ vor	-6,41 ± o,58	8,34 ± o,27	1,93 ± o,32
		3o-6o′ nach	-5,8	8,o	2,2
	1o mM F-1,6-P_2, Na	3o-6o′ nach	-7,6	1o,2	2,8
31	Kontrolle	$\bar{Q}$ o-3o′ vor	-6,37 ± o,21	9,o7 ± o,2o	2,7o ± o,o2
		3o-6o′ nach	-5,5	7,1	1,7
	1o mM F-1,6-P_2, Na	3o-6o′ nach	-7,o	9,8	2,8
32	Kontrolle	$\bar{Q}$ o-3o′ vor	-5,33 ± o,31	8,o2 ± o,28	2,68 ± o,21
		$\bar{Q}$ 5o-9o′ nach	-5,68 ± o,o1	7,71 ± o,12	2,o4 ± o,12
		$\bar{Q}$ 9o-13o′nach	-5,92 ± o,23	8,14 ± o,55	2,23 ± o,32
	1o mM F-1,6-P_2, Na	$\bar{Q}$ 5o-9o′ nach	-6,64 ± o,11	1o,o1 ± o,o5	3,38 ± o,33
		$\bar{Q}$ 9o-13o′nach	-6,83 ± o,12	1o,oo ± o,o5	3,17 ± o,o8
	1o mM F-1,6-P_2, Ca	$\bar{Q}$ 5o-9o′ nach	-5,76 ± o,12	8,64 ± o,15	2,88 ± o,24
		$\bar{Q}$ 9o-13o′nach	-5,58 ± o,13	8,o8 ± o,o2	2,56 ± o,o2

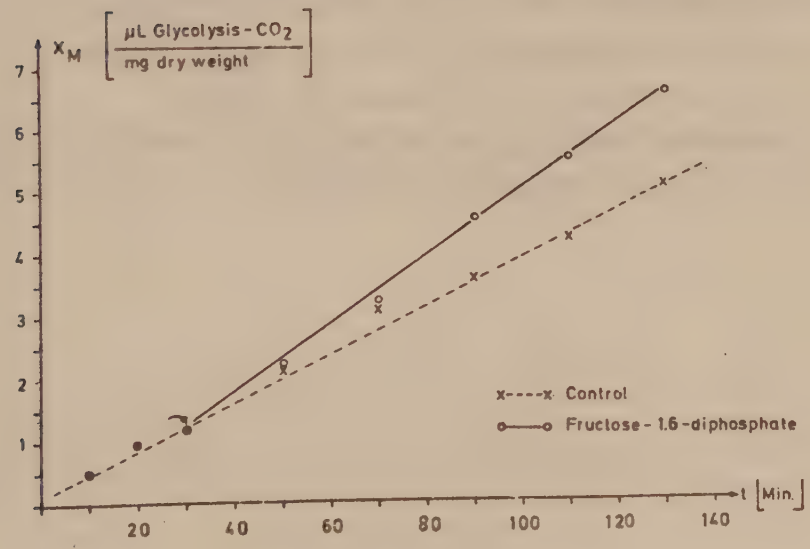
Zu Versuch Nr. 32 :

Graphische Darstellung des Sauerstoff-Verbrauchs der Kortexschnitte nach Zugabe von 1o mM F-1,6-P_2 als Natrium-Salz. Die Kurve zeigt den O_2-Verbrauchs-Anstieg nach Zugabe der Substanz im Vergleich zur Kontrolle.



Zu Versuch Nr. 32 :

Graphische Darstellung der Milchsäure-Bildung der Hirnschnitte nach Zugabe von 1o mM F-1,6-P_2 als Natrium-Salz. Die Kurve spiegelt den Anstieg der Milchsäure-Entstehung nach Zugabe der Substanz im Vergleich zur Kontrolle wieder.



4.3. GLUKOSE-, LAKTAT- und PYRUVAT-BESTIMMUNG:

Tabelle der Substanzen aus dem Glukose-Abbau:

Nachfolgende Tabelle beinhaltet die Werte des Glukose-Verbrauchs, der Laktat- und Pyruvat-Bildung in den inkubierten Hirnrindenschnitten mit und ohne Zugabe der verschiedenen Substanzen.

Dimension: µg Glukose (bzw. Laktat bzw. Pyruvat) pro mg Trockensubstanz und Stunde.

Die negativen Werte unter der Rubrik Glukose-Verbrauch bedeuten, daß nach dem Versuch mehr Glukose plus G-6-P gefunden wird, als zu Beginn der Inkubation vorhanden war (siehe Abhandlung Methodik: Glukose-Bestimmung). Außerdem wird in der Tabelle der Laktat-Pyruvat-Quotient angegeben.

Vers.-Nr.		Zugabe	Glukose	Laktat	Pyruvat	Laktat/Pyruvat
1	G:	Kontrolle	15,21	9,91	o,71	13,96
		5 mM Sorbit	15,15	9,31	o,57	16,33
	Ö:	Kontrolle	19,16	12,53	o,87	14,4o
		5 mM Sorbit	22,3o	15,67	o,98	15,99
2	G:	Kontrolle	15,54	1o,66	o,75	14,21
		1o mM Sorbit	13,73	9,77	o,61	16,o2
	Ö:	Kontrolle	16,63	1o,57	o,61	17,33
		1o mM Sorbit	14,93	1o,77	o,64	16,83
3	G:	Kontrolle	11,69	3,12	o,39	8,oo
		6,5 mM Glukose	16,38	4,46	o,45	9,91
	Ö:	Kontrolle	14,65	4,63	o,47	9,85
		6,5 mM Glukose	22,46	7,23	o,61	11,85
4	G:	Kontrolle	18,84	15,83	o,74	21,39
		1o mM Glukose	2o,5o	16,9o	o,9o	18,78
	Ö:	Kontrolle	25,44	21,21	o,9o	23,57
		1o mM Glukose	34,26	21,o8	1,o1	2o,87

Vers.-Nr.		Zugabe	Glukose	Laktat	Pyruvat	Laktat/Pyruvat
5	G:	Kontrolle	14,81	7,92	o,7o	11,31
		15 mM Glukose	17,26	9,46	o,67	14,12
	Ö:	Kontrolle	15,88	8,54	o,84	1o,17
		15 mM Glukose	11,75	9,1o	o,78	11,67
6	G:	Kontrolle	25,14	19,89	o,89	22,35
		2o mM Glukose	26,o3	18,97	1,12	16,94
	Ö:	Kontrolle	26,73	22,88	1,o1	22,65
		2o mM Glukose	39,oo	24,16	1,28	18,88
7	G:	Kontrolle	1o,69	6,56	o,61	1o,75
		5 mM G-1-P, Na	- 7,42	8,o9	o,61	13,26
	Ö:	Kontrolle	12,86	8,65	o,89	9,72
		5 mM G-1-P, Na	-11,63	9,43	o,7o	13,47
8	G:	Kontrolle	12,2o	7,o2	o,75	9,36
		2 mM G-6-P, Na	2o,61	6,92	o,69	1o,o3
	Ö:	Kontrolle	13,48	7,58	o,77	9,84
		2 mM G-6-P, Na	24,32	1o,2o	o,91	11,21

Vers.-Nr.		Zugabe	Glukose	Laktat	Pyruvat	Laktat/Pyruvat
9	G:	Kontrolle	11,27	6,88	o,68	1o,12
		5 mM G-6-P, Na	28,67	8,6o	o,71	12,11
	Ö:	Kontrolle	14,22	9,47	o,85	11,14
		5 mM G-6-P, Na	29,o2	1o,13	o,66	15,35
1o	G:	Kontrolle	1o,81	5,43	o,66	8,23
		1o mM G-6-P, Na	44,53	6,8o	o,57	11,93
	Ö:	Kontrolle	15,26	7,59	o,87	8,72
		1o mM G-6-P, Na	56,o2	1o,57	o,87	12,15
11	G:	Kontrolle	15,12	5,o5	o,52	9,71
		1o mM F-1-P, Na	17,36	7,32	o,6o	12,2o
	Ö:	Kontrolle	17,36	7,21	o,79	9,13
		1o mM F-1-P, Na	19,25	9,17	o,74	12,39
12	G:	Kontrolle	17,53	16,33	o,68	24,o1
		5 mM F-6-P, Na	- 2,78	16,27	o,82	19,84
	Ö:	Kontrolle	26,43	23,97	1,o4	23,o5
		5 mM F-6-P, Na	- 1,53	24,11	o,98	24,6o

Vers.-Nr.		Zugabe	Glukose	Laktat	Pyruvat	Laktat/Pyruvat
13	G:	Kontrolle	21,79	18,26	o,6o	3o,43
		1o mM F-6-P, Na	-18,o5	19,82	o,71	27,92
	Ö:	Kontrolle	26,1o	21,81	o,79	27,61
		1o mM F-6-P, Na	-29,48	21,27	o,93	22,87
14	G:	Kontrolle	18,7o	7,o2	o,68	1o,32
		1o mM F-6-P, Na	-29,54	8,14	o,66	12,33
	Ö:	Kontrolle	22,44	8,65	o,93	9,3o
		1o mM F-6-P, Na	-66,67	11,52	o,9o	12,8o
15		Kontrolle	18,o9	15,57	1,16	13,42
		1,6 mM F-1,6-P_2, Na	24,26	15,o7	1,53	9,85
16	G:	Kontrolle	24,55	16,43	o,86	19,1o
		2 mM F-1,6-P_2, Na	21,96	17,24	o,7o	24,63
	Ö:	Kontrolle	25,42	22,35	1,17	19,1o
		2 mM F-1,6-P_2, Na	24,33	21,4o	1,o3	2o,78

Vers.-Nr.		Zugabe	Glukose	Laktat	Pyruvat	Laktat/Pyruvat
17	G:	Kontrolle	14,2o	9,o1	o,53	17,oo
		2 mM F-1,6-P_2, Na	16,68	1o,32	o,56	18,43
	Ö:	Kontrolle	18,o5	12,33	o,73	16,89
		2 mM F-1,6-P_2, Na	17,1o	12,64	o,7o	18,o6
18	G:	Kontrolle	13,38	8,87	o,66	13,44
		5 mM F-1,6-P_2, Na	15,o4	9,77	o,52	18,79
	Ö:	Kontrolle	17,42	12,53	o,85	14,74
		5 mM F-1,6-P_2, Na	17,99	12,53	o,66	18,98
19		Kontrolle	19,82	13,98	1,12	12,48
		5 mM F-1,6-P_2, Na	2o,97	13,79	o,68	2o,28
2o		Kontrolle	18,27	14,48	o,89	16,27
		5 mM F-1,6-P_2, Na	19,36	15,85	o,7o	22,64
21		Kontrolle	18,49	14,8o	1,37	1o,8o
		5 mM F-1,6-P_2, Na	22,31	17,o7	o,99	17,24

Vers.-Nr.	Zugabe	Glukose	Laktat	Pyruvat	Laktat/Pyruvat
22	Kontrolle	22,88	17,36	o,87	19,95
	5 mM F-1,6-P_2, Na	22,33	17,91	o,79	22,67
	5 mM F-1,6-P_2, Ca	2o,69	17,o6	o,68	25,o9
23	Kontrolle	31,75	22,53	1,28	17,6o
	5 mM F-1,6-P_2, Na	27,29	23,92	1,o9	21,94
	5 mM F-1,6-P_2, Ca	26,49	2o,88	o,8o	26,1o
	5 mM Ca^{2+}	28,57	2o,56	1,25	16,45
	5 mM PO_4^{3-}	31,67	24,48	1,44	17,oo
24	Kontrolle	25,17	14,5o	o,87	16,67
	5 mM F-1,6-P_2, Na	26,34	15,67	o,82	19,11
	1o mM Fruktose	23,56	14,77	1,o6	13,93
	6 mM PO_4^{3-}	26,4o	15,78	1,o4	15,17
	5 mM Fruktose + 3 mM PO_4^{3-}	24,49	16,41	1,26	13,o2

Vers.-Nr.	Zugabe	Glukose	Laktat	Pyruvat	Laktat/Pyruvat
25	Kontrolle	17,38	14,58	o,72	2o,25
	5 mM F-1,6-P_2, Na	18,77	16,26	o,64	25,41
	1,5 mM DAP	18,45	13,75	o,77	17,86
	1,5 mM GAP	15,89	12,95	o,59	21,95
	1,5 mM DAP + 1,5 mM GAP	13,8o	11,4o	o,59	19,32
26	G: Kontrolle	17,8o	14,4o	o,61	23,61
	1o mM F-1,6-P_2, Na	21,46	15,96	o,5o	31,92
	Ö: Kontrolle	2o,45	17,63	o,78	22,6o
	1o mM F-1,6-P_2, Na	23,27	18,1o	o,64	28,28
27	Kontrolle	24,52	17,72	o,7o	25,31
	1o mM F-1,6-P_2, Na	22,52	17,97	o,56	32,o9
28	Kontrolle	22,o7	17,o2	o,79	21,54
	1o mM F-1,6-P_2, Na	23,14	19,oo	o,62	3o,65

Vers.-Nr.	Zugabe	Glukose	Laktat	Pyruvat	Laktat/Pyruvat
29	Kontrolle	13,33	1o,64	o,5o	21,28
	1o mM F-1,6-P_2, Na	11,22	1o,43	o,7o	14,9o
3o	Kontrolle	26,16	16,84	o,8o	21,o5
	1o mM F-1,6-P_2, Na	25,48	19,12	o,68	28,12
31	Kontrolle	18,49	14,8o	1,37	1o,8o
	1o mM F-1,6-P_2, Na	21,o6	17,2o	o,9o	19,11
32	Kontrolle	25,58	21,o4	1,34	15,7o
	1o mM F-1,6-P_2, Na	27,o9	21,43	o,98	21,87
	1o mM F-1,6-P_2, Ca	2o,39	18,o8	o,7o	25,83

4.4. F-1,6-P_2 - und TRIOSEPHOSPHAT-BESTIMMUNG:

"Standard" bedeutet die in der Inkubations-Lösung tatsächlich vorhandenen, photometrisch gemessenen Konzentrationen von F-1,6-P_2 bzw. DAP bzw. GAP.

Diese Tabelle beinhaltet den Verbrauch von F-1,6-P_2 durch die inkubierten Hirnrindenschnitte und das Triosephosphat, das am Versuchsende gefunden wird.

Dimension: mM.

Bei den Versuchen Nr. 19, 23 und 24, die am Beginn einer Serie standen, wurde aus labortechnischen Gründen keine Triosephosphat-Bestimmung durchgeführt.

Vers.-Nr.		Standard	F-1,6-P_2	Triose-P
15		1,73 ± o,oo, Na	o,73 ± o,16	o,68 ± o,23
16	G:	2,o3 ± o,oo, Na	o,94 ± o,o5	1,63 ± o,o6
	Ö:	2,o3 ± o,oo, Na	o,94 ± o,o1	1,58 ± o,o4
19		4,9o ± o,o5, Na	1,42 ± o,oo	
21		5,o8 ± o,o5, Na	1,55 ± o,o7	o,58 ± o,o8
22		5,25 ± o,15, Na	1,52 ± o,o5	1,53 ± o,o8
		5,6o ± o,1o, Ca	1,31 ± o,o6	1,38 ± o,o8
23		5,o8 ± o,o3, Na	1,13 ± o,o5	
		5,8o ± o,oo, Ca	1,45 ± o,oo	
24		5,3o ± o,oo, Na	1,5o ± o,oo	
25		4,9o ± o,oo, Na	1,22 ± o,oo	2,67 ± o,13
	DAP:	2,88 ± o,oo	o,94 ± o,oo	o,6o ± o,oo
	GAP:	1,77 ± o,o7	o,45 ± o,o1	o,76 ± o,o2
		+o,27 ± o,o1 DAP		
	DAP:	3,15 ± o,o1	1,72 ± o,o8	1,46 ± o,o4
	+GAP:	1,78 ± o,o6		
26	G:	9,35 ± o,o3, Na	1,8o ± o,o8	1,9o ± o,3o
	Ö:	9,35 ± o,o3, Na	1,47 ± o,o2	o,oo
27		11,oo ± o,2o, Na	2,39 ± o,23	1,8o ± o,oo
28		11,3o ± o,o8, Na	2,34 ± o,3o	1,64 ± o,o3

Vers.-Nr.	Standard	F-1,6-P_2	Triose-P
29	1o,63 ± o,o1, Na	1,31 ± o,o1	1,o2 ± o,o7
3o	11,35 ± o,o3, Na	1,6o ± o,11	1,54 ± o,o9
31	1o,92 ± o,o4, Na	1,23 ± o,o3	o,63 ± o,o7
32	1o,2o ± o,2o, Na	1,23 ± o,o5	2,2o ± o,2o
	11,18 ± o,o8, Ca	2,86 ± o,29	2,oo ± o,1o

4.5. GESAMTGEHALT der ELEKTROLYTE NATRIUM und KALIUM:

Tabelle der Gesamt-Elektrolyt-Bestimmung der Hirnschnitte:

Diese Tabelle beinhaltet den Gesamt-Natrium- und Gesamt-Kalium-Gehalt der inkubierten Kortexschnitte, und zwar jeweils den theoretisch berechneten und den tatsächlich gemessenen Wert und die Differenz von beiden.

Dimension: mVal pro 100 g Frischgewicht.

Vers.-Nr.	Zugabe	Na theor/tats		K theor/tats	
4	G: Kontrolle	2o,2/25,4	+5,2	12,4/4,3	-8,1
	1o mM Glukose	21,2/27,9	+6,7	12,5/4,5	-8,o
	Ö: Kontrolle	2o,8/24,9	+4,1	1o,9/4,6	-6,3
	1o mM Glukose	2o,9/25,o	+4,1	1o,9/4,5	-6,4
6	Ö: Kontrolle	23,2/25,4	+2,2	13,8/4,5	-9,3
	2o mM Glukose	22,5/24,2	+1,7	13,7/4,4	-9,3
12	G: Kontrolle	2o,5/23,4	+2,9	11,1/4,7	-6,4
	5 mM F-6-P, Na	21,1/24,4	+3,3	11,1/4,9	-6,2
	Ö: Kontrolle	2o,6/22,2	+1,6	1o,7/4,3	-6,4
	5 mM F-6-P, Na	19,8/21,1	+1,3	1o,7/4,6	-6,1
13	G: Kontrolle	2o,8/23,o	+2,2	11,6/4,7	-6,9
	1o mM F-6-P, Na	19,8/22,7	+2,9	11,6/4,9	-6,7
	Ö: Kontrolle	22,4/23,3	+o,9	12,5/4,9	-7,6
	1o mM F-6-P, Na	22,1/23,2	+1,1	12,4/5,4	-7,o
15	Kontrolle	18,1/21,7	+3,6	11,o/4,2	-6,8
	1,6 mM F-1,6-P_2, Na	18,5/2o,6	+2,1	11,o/4,5	-6,5
16	G: Kontrolle	21,o/22,4	+1,4	12,8/5,3	-7,5
	2 mM F-1,6-P_2, Na	21,2/23,4	+2,2	12,8/5,o	-7,8
	Ö: Kontrolle	21,3/23,3	+2,o	12,9/5,5	-7,4
	2 mM F-1,6-P_2, Na	2o,4/23,2	+2,8	12,9/5,o	-7,9
17	G: Kontrolle	2o,6/23,3	+2,7	13,o/2,4	-1o,6
	2 mM F-1,6-P_2, Na	23,1/24,2	+1,1	13,o/3,2	-9,8

Vers.-Nr.	Zugabe	Na theor/tats		K theor/tats	
Forts.. Ö:	Kontrolle	19,3/22,7	+3,4	9,8/2,6	-7,2
17	2 mM F-1,6-P_2, Na	18,7/22,6	+3,9	9,8/2,8	-7,o
19	Kontrolle	21,3/24,9	+3,6	11,7/4,4	-7,3
	5 mM F-1,6-P_2, Na	2o,5/25,3	+4,8	11,6/4,5	-7,1
2o	Kontrolle	2o,5/29,6	+9,1	11,6/6,4	-5,2
	5 mM F-1,6-P_2, Na	2o,3/29,6	+9,3	11,6/5,7	-5,9
21	Kontrolle	14,8/16,1	+1,3	1o,4/3,4	-7,o
	5 mM F-1,6-P_2, Na	14,8/18,3	+3,5	1o,4/4,o	-6,4
22	Kontrolle	16,5/19,5	+3,o	9,8/2,3	-7,5
	5 mM F-1,6-P_2, Na	15,6/21,2	+5,6	9,7/2,3	-7,4
	5 mM F-1,6-P_2, Ca	13,8/18,1	+4,3	9,7/2,5	-7,2
23	Kontrolle	2o,7/26,2	+5,5	11,6/3,8	-7,8
	5 mM F-1,6-P_2, Na	2o,3/28,4	+8,1	11,6/3,3	-8,3
	5 mM F-1,6-P_2, Ca	17,7/22,o	+4,3	11,5/3,2	-8,3
	5 mM Ca^{2+}	19,7/26,1	+6,4	11,6/3,9	-7,7
	5 mM PO_4^{3-}	19,2/25,5	+6,3	11,6/3,4	-8,2
24	Kontrolle	23,1/27,o	+3,9	11,7/3,8	-7,9
	5 mM F-1,6-P_2, Na	21,8/27,4	+5,6	11,6/3,3	-8,3
	1o mM Fruktose	22,7/25,4	+2,7	11,7/3,7	-8,o
	6 mM PO_4^{3-}	22,1/27,5	+5,4	11,7/3,6	-8,1
	5 mM Fruktose + 3 mM PO_4^{3-}	21,9/25,8	+3,9	11,7/3,5	-8,2

Vers.-Nr.	Zugabe	Na theor/tats		K theor/tats	
25	Kontrolle	2o,7/26,1	+5,4	11,6/4,3	-7,3
	5 mM F-1,6-P_2, Na	2o,8/27,1	+6,3	11,6/4,4	-7,2
	1,5 mM DAP	2o,4/26,o	+5,6	11,6/4,2	-7,4
	1,5 mM GAP	2o,3/24,4	+4,1	11,6/4,3	-7,3
	1,5 mM DAP + 1,5 mM GAP	2o,4/27,5	+7,1	11,6/3,9	-7,7
26	G: Kontrolle	19,8/2o,3	+o,5	13,1/4,2	-8,9
	1o mM F-1,6-P_2, Na	18,7/21,8	+3,1	13,o/4,2	-8,8
	Ö: Kontrolle	21,6/21,9	+o,3	11,8/5,1	-6,7
	1o mM F-1,6-P_2, Na	21,8/23,9	+2,1	11,7/5,4	-6,3
27	Kontrolle	2o,1/21,3	+1,2	11,6/3,6	-8,o
	1o mM F-1,6-P_2, Na	19,8/23,1	+3,3	11,5/3,4	-8,1
28	Kontrolle	16,5/18,8	+2,3	9,9/3,7	-6,2
	1o mM F-1,6-P_2, Na	15,1/19,8	+4,7	9,8/3,9	-5,9
29	Kontrolle	14,1/17,1	+3,o	9,5/3,4	-6,1
	1o mM F-1,6-P_2, Na	13,1/18,1	+5,o	9,5/3,5	-6,o
3o	Kontrolle	17,5/2o,5	+3,o	1o,7/4,2	-6,5
	1o mM F-1,6-P_2, Na	17,7/21,4	+3,7	1o,6/4,o	-6,6
31	Kontrolle	14,8/16,1	+1,3	1o,4/3,4	-7,o
	1o mM F-1,6-P_2, Na	13,4/18,4	+5,o	1o,3/3,7	-6,6

Vers.-Nr.	Zugabe	Na		K	
		theor/tats		theor/tats	
32	Kontrolle	18,8/23,3	+4,5	1o,9/5,1	-5,8
	1o mM F-1,6-P_2, Na	17,8/24,1	+6,3	1o,8/4,o	-6,8
	1o mM F-1,6-P_2, Ca	14,6/21,8	+7,2	1o,7/4,5	-6,2

4.6. EZR und IZR:

Tabelle der Werte des EZR und IZR:

Diese Tabelle gibt die Größen des EZR und IZR und ihre Veränderungen durch Zugabe von F-1,6-P_2 wieder, berechnet anhand der Inulin-Markierung und der Trockensubstanzgehalt-Bestimmung der inkubierten Hirnrindenschnitte.

Dimension: µl Wasser pro 1oo mg Endfrischgewicht.

Vers.-Nr.		Zugabe	EZR	IZR
7	G:	Kontrolle	35,5	52,4
		5 mM G-1-P, Na	39,3	48,4
	Ö:	Kontrolle	37,4	51,3
		5 mM G-1-P, Na	42,1	46,2
9	G:	Kontrolle	51,4	37,7
		5 mM G-6-P, Na	54,3	34,o
	Ö:	Kontrolle	53,7	35,3
		5 mM G-6-P, Na	52,o	36,7
11	G:	Kontrolle	31,8	56,8
		1o mM F-1-P, Na	25,7	62,3
	Ö:	Kontrolle	25,7	63,2
		1o mM F-1-P, Na	26,o	62,3
18	G:	Kontrolle	46,7	42,2
		5 mM F-1,6-P_2, Na	49,2	39,3
	Ö:	Kontrolle	5o,6	39,1
		5 mM F-1,6-P_2, Na	48,6	4o,3
22		Kontrolle	49,1	41,2
		5 mM F-1,6-P_2, Na	6o,9	28,3
		5 mM F-1,6-P_2, Ca	58,4	3o,3
27		Kontrolle	41,7	47,5
		1o mM F-1,6-P_2, Na	56,7	31,3

Vers.-Nr.	Zugabe	EZR	IZR
28	Kontrolle	48,9	41,1
	1o mM F-1,6-P_2, Na	51,4	37,2
29	Kontrolle	45,4	43,9
	1o mM F-1,6-P_2, Na	51,2	36,8
32	Kontrolle	47,4	42,2
	1o mM F-1,6-P_2, Na	72,1	16,1
	1o mM F-1,6-P_2, Ca	59,2	28,5

4.7. INTRAZELLULÄRE ELEKTROLYTE NACH VERSUCH:

Tabelle der intrazellulären Kationen Natrium und Kalium:

Die intrazellulären Natrium- und Kalium-Gehalte werden folgendermaßen berechnet:

Gesamt-Elektrolytgehalt der Kortexschnitte minus Ionen-Gehalt des EZR, in Relation zum IZR gesetzt.

Dimension: mMol Natrium bzw. Kalium pro 1 intrazellulären Wassers.

Vers.-Nr.	Zugabe	Natrium	Kalium
22	Kontrolle	1oo	25
	5 mM F-1,6-P_2, Na	149	45
	5 mM F-1,6-P_2, Ca	162	51
27	Kontrolle	116	37
	1o mM F-1,6-P_2, Na	131	53
28	Kontrolle	1o9	45
	1o mM F-1,6-P_2, Na	13o	77
29	Kontrolle	112	43
	1o mM F-1,6-P_2, Na	126	59

5. BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE:

In der vorliegenden Arbeit wurde geprüft, ob eine Rückbildung des Hirnödems durch eine Steigerung der Glukose-Utilisation erreicht werden kann.

Zwei Typen der Entstehung eines Hirnödems wurden angewandt:

1. Eine Ödementwicklung in vitro, wenn Hirnschnitte unter günstigen metabolischen Bedingungen in isotonen Salzlösungen inkubiert werden (ELLIOTT).
2. Ein durch Kälteapplikation in vivo ausgelöstes Hirnödem.

Ersteres tritt zwangsläufig auf bei der zur manometrischen Stoffwechselmessung im WARBURG-Gerät notwendigen Inkubation der Hirnschnitte. Kortexschnitte, die nur durch das "inkubationsbedingte Ödem" ausgezeichnet sind, werden in den Tabellen teilweise dem Hirngewebe, das außerdem in vivo ein Kältetrauma erlitten hat, zum Vergleich gegenübergestellt.

Durch epidurale Applikation eines genau dosierten Kältetraumas - nähere Einzelheiten siehe Abhandlung Methodik - läßt sich ein reproduzierbares Hirnödem auslösen, dessen Typ und Entstehungsmechanismus vergleichbar ist mit denen um hämorrhagische Infarkte, Abszesse und einige Hirntumoren, nach Kontusio (CLASEN et al., GERSCHENFELD et al., ISHII et al, KLATZO et al. und RAIMONDI et al.) und nach größeren neuro-

chirurgischen Eingriffen (KREMER).

Elektronenmikroskopisch zeigt sich eine intrazelluläre Schwellung vor allem der Astroglia ohne wesentliche Tingierung des Extrazellular-Raumes (TORACK et al. und DE ROBERTIS et al.). Die gesteigerte Wasseransammlung in der Zelle ist eine osmotische Folgeerscheinung des erhöhten intrazellulären Natriumeinstromes. Als Ursache wird die energetische Insuffizienz der kältegeschädigten Zelle angesehen (PALLESKE et al. und REULEN et al.).

Die ausgeprägten Elektrolytveränderungen beim beginnenden Hirnödem längs des Konzentrationsgefälles, Natrium strömt in die Zelle, Kalium heraus, könnte als Ausfall der aktiv arbeitenden "Natriumpumpe" (LULLIES) gedeutet werden.

Da fast ausschließlich Glukose als Energielieferant des Gehirns dient (OPITZ) und durch PALLESKE, HERRMANN und LOEW zu Beginn des Hirnödems eine Glukosestoffwechselstörung als Hauptursache der Ödementwicklung (LABORIT et al.) nachgewiesen wurde, liegt es nahe, durch Zugabe verschiedener Zuckerphosphate, die in den Abbau nach dem EMBDEN-MEYERHOF-PARNAS-Schema eingeschleust werden können und somit organische Bestandteile darstellen, eine mögliche Rückbildung des Hirnödems zu erlangen.

Um eine Beeinflussung des Hirnödems durch Zuckerphosphate messbar zu erfassen, dienten folgende Kriterien:

1. Wassergehaltsmessung der Hirnschnitte:

1.1. Wassergehalt vor dem Versuch (Originalgehirn)

1.2. Wassergehalt nach dem Versuch

1.3. Schwellung

2. Gasstoffwechsel des Hirngewebes:

2.1. Q_{O_2} = Sauerstoff-Verbrauch (Atmung)

2.2. Q_{CO_2} = Atmungs- plus Gärungs-Kohlendioxyd

2.3. Q_M = Kohlendioxyd aus der aeroben Milchsäuregärung

3. Stoffwechselprodukte aus dem EMBDEN-MEYERHOF-PARNAS-Abbau:

3.1. Glukose-Verbrauch

3.2. Laktat-Bildung

3.3. Pyruvat-Bildung

3.4. Laktat-Pyruvat-Quotient

4. Schicksal des zugegebenen F-1,6-P_2:

4.1. Veränderung der ursprünglichen F-1,6-P_2 - Konzentration

4.2. Wiedergefundene F-1,6-P_2 - Bruchstücke

5. Elektrolyt-Gesamtgehalt der Hirnschnitte nach Versuch:

5.1. Theoretisch ermittelter Wert

5.2. Tatsächlich gemessener Wert

6. Größe der verschiedenen Räume:

6.1. Extrazellular-Raum

6.2. Intrazellular-Raum

7. Intrazelluläre Elektrolyt-Konzentrationen nach Versuch.

ad 1. Wie verändern sich Wassergehalt und Schwellung - als Maß für die Entwicklung eines Ödems - durch Zugabe

verschiedener Zuckerphosphate?

Aufgrund der Wassergehaltsbestimmungen vor dem Versuch läßt sich eine signifikante Wassereinlagerung in das ödematöse Hirngewebe nachweisen. Diese Ergebnisse stimmen mit KREMER überein, der 24 Stunden nach Setzen eines Kälteödems eine Wasserzunahme von annähernd 2 % im Hirngewebe fand. Eine bedeutendere Wasseraufnahme erfuhren die Hirnschnitte durch die Inkubation in K-Lösung zur Stoffwechselmessung, jedoch fiel sie um etwa o,6 % im Durchschnitt geringer aus bei den Ödem-Schnitten. Die absoluten Zahlen, die in der vorliegenden Tabelle angegeben werden, müssen aber insofern kritisch beurteilt werden, da in diese Bestimmung auch das Wasser miteingegangen ist, das sich am Ende des Versuchs zwischen den Hirnschnitten befindet. Dieser Fehler ist aufgrund der angewandten Methode, siehe Abhandlung Methodik, leider nicht auszuschließen, darf jedoch bei allen Bestimmungen als ähnlich groß angesehen werden. Die Möglichkeit des Vergleichens bleibt dadurch gewährt. Diese Überlegung trifft auch für die Diskussion der Schwellungsergebnisse, die sich sowohl in den Schwellungs- als auch Wassergehalts-Werten am Versuchsende ausdrücken, völlig zu.

Die Schwellung, d.h. die Wassereinlagerung, gemessen in µl pro 1oo mg Anfangsfrischgewicht, muß immer im Vergleich Kontrolle zu den Hirnschnitten interpretiert werden, denen Substanzen zugekippt wurden.

1. Zugabe von Glukose in den Konzentrationen 6,5 mM,

1o mM, 15 mM und 2o mM :

Das ursprüngliche Hirngewebe, mit "G" gekennzeichnet, zeigt in zwei Fällen (6,5 mM und 1o mM Glukosezugabe) eine Zunahme der Wassereinlagerung und nur in einem Fall (15 mM) einen geringen Wasserverlust. Dagegen kann beim Kälteödem eine signifikante Rückbildung nachgewiesen werden.

2. Zugabe von G-1-P in der Konzentration von 5 mM :

Sowohl das ursprüngliche als auch das ödematöse Hirngewebe lassen einen Schwellungsrückgang erkennen.

3. Zugabe von G-6-P in den Konzentrationen 2 mM, 5 mM und 1o mM :

Bei Zugabe von 2 mM G-6-P läßt sich keine signifikante Aussage über eine Schwellungsveränderung machen; jedoch bewirkt die Zugabe von G-6-P in den Konzentrationen 5 mM und 1o mM einen deutlichen Wasserentzug.

4. Zugabe von 1o mM F-1-P :

In beiden Fällen, Gesund und Ödem, verursacht das 1o millimolare F-1-P eine ausgeprägte Wasserverminderung.

5. Zugabe von F-6-P in den Konzentrationen 5 mM und 1o mM :

Vor allem die Zugabe von 1o mM F-6-P verwirklicht einen stärkeren Schwellungsrückgang als die zuvor aufgeführten Substanzen.

6. Zugabe von F-1,6-P_2 in den Konzentrationen 1,6 mM, 2 mM, 5 mM und 1o mM :

Erst die Zugabe von 2 mM F-1,6-P_2 verifiziert beim

Ödem einen signifikanten Wasserverlust. Höhere Konzentrationen von F-1,6-P_2 vergrößern diesen Effekt der Wasserausschwemmung, vor allem das Kalzium-Salz des F-1,6-P_2. Die Wirkung des Fruktosediphosphats übertrifft wesentlich die der vorgenannten Substanzen.

7. Zugabe von 1o mM Fruktose, 6 mM Na_2HPO_4, 5 mM Fruktose + 3 mM Na_2HPO_4, 1,5 mM DAP, 1,5 mM GAP, 1,5 mM DAP + 1,5 mM GAP und 5 mN $CaCl_2$ in verschiedenen Versuchen:

Diese Substanzen wurden in einigen Versuchen zugekippt, um den Effekt von Ursprungs- und Verbindungssubstanzen und Spaltprodukten des Fruktosediphosphats zu eruieren. Sie erzielen zwar eine signifikante Wasserausschwemmung, die Zugabe der Verbindung F-1,6-P_2 in den Konzentrationen 5 mM und 1o mM zeigt jedoch eine wesentlich stärkere Wirkung.

8. Zugabe von Sorbit in den Konzentrationen 5 mM und 1o mM :

Sorbit ist neben Mannit, beide Hexite, in der Therapie des Hirnödems ein oft angewandtes Mittel wegen seiner schnell einsetzenden osmotischen Wirkung. Erst in der Konzentration 1o mM zeigt es im Vergleich zum F-1,6-P_2 in derselben Konzentration nur eine geringe wasservermindernde Wirkung auf das Ödem.

Anhand der Schwellungstabelle konnte nachgewiesen werden, daß das Fruktosediphosphat den ausgeprägtesten ödemrückbildenden Effekt verursacht.

Daraus ergeben sich folgende Fragen:

Ist die Wirkung des Fruktosediphosphats rein osmotisch bedingt oder bewirkt es auch eine Stoffwechselsteigerung? Wenn diese Frage bejaht werden kann, liegt die Vermutung nahe, daß eine organische Verbindung umso effizienter ist, je energiereicher (als Diphosphat) sie in den Glukose-Abbau nach dem EMBDEN-MEYERHOF-PARNAS-Schema eingeschleust werden kann.

ad 2. Welche Veränderungen des Gasstoffwechsels lassen sich nach Zugabe verschiedener Zuckerphosphate nachweisen?

EBINA und KREBS et al. inkubierten Kaninchenhirnschnitte in Kaninchenserum, um das Ausmaß ihrer Atmung festzustellen. Sie fanden Q_{O_2}-Werte von -9 ± -2.

RIDGE untersuchte ebenfalls die Atmung, jedoch unter anderen Bedingungen: er inkubierte Kaninchenhirnschnitte bei 37 Grad C in Krebs-Ringer-Lösung mit Tris-Puffer unter Zufuhr reinen Sauerstoffs und stellte je nach Hirnregion unterschiedliche Q_{O_2}-Werte fest: für das Korpus kallosum -3,1, für die Kleinhirnrinde -14,8 und für die Großhirnrinde -12,2.

Nach WARBURG werden bei Inkubationen in Salzlösungen allgemein geringere Atmungseffekte gemessen. Diese Methode hat aber den Vorteil, daß Respirationswirkungen aufgrund zugekippter Substanzen so besser mit ihrer Wirkung auf den in vitro-Stoffwechsel identifiziert werden können.

Gleich anderen Autoren (VON ARDENNE, HERRMANN und

DITTMANN, NEGELEIN et al. und WARBURG et al.) versuchten wir im Verlaufe der Stoffwechselmessung der in abgewandelter Krebs-Ringer-Lösung inkubierten Kaninchenhirnrindenschnitte eine annähernd physiologische Atmosphäre durch 1o Minuten lange Begasung vor Beginn des WARBURG-Versuches herzustellen und aufrecht zu erhalten.

Zufuhr von Gasgemischen in leicht abgewandelter Zusammensetzung verursachen Differenzen der Atmungswerte. Ebenfalls spiegelt sich die Glukose-Konzentration der Inkubationslösung in der Höhe der Atmungswerte wieder, da die Glykolyse ein Teilgebiet im Ablauf der Atmungskette darstellt (BURK et al.).

In Gegenwart von Glukose ist der RQ der Hirnschnitte 1 (WEIL-MALHERBE); folglich verstoffwechselt das Gehirn fast ausschließlich Glukose (OPITZ)! Der RQ von 1 besagt, daß unter aeroben Bedingungen das gleiche Volumen CO_2 gebildet wie O_2 verbraucht wird. Die Differenz der Absolutwerte $Q_{CO_2} - Q_{O_2}$ zeigt die CO_2-Bildung aufgrund der Milchsäureentstehung im Hirngewebe an: die gebildeten H^+-Ionen setzen aus dem Bikarbonat der Inkubationslösung CO_2 frei.

So können sieben verschiedene Versuchsreihen zusammengestellt werden, um Durchschnitts-Q-Werte für die Zeit vor dem Zukippen verschiedener Substanzen zu berechnen.

Serie 1: 1o mM Glukose in der K-Lösung, Begasung: 2o % O_2 und 5 % CO_2 bei den Versuchen 12, 13, 16 und 26:

G: $\bar{Q}_{O_2} = -5,22$, $\bar{Q}_{CO_2} = 7,43$, $\bar{Q}_M = 2,21$

Ö: $\bar{Q}_{O_2} = -5,14$, $\bar{Q}_{CO_2} = 8,31$, $\bar{Q}_M = 3,17$

Serie 2: 5 mM Glukose in der K-Lösung, Begasung: 2o % O_2 und 5 % CO_2 bei den Versuchen 15, 25, 27, 28, 3o und 31:

$\bar{Q}_{O_2} = -6,o2$, $\bar{Q}_{CO_2} = 8,35$, $\bar{Q}_M = 2,33$

Serie 3: 2,5 mM Glukose in der K-Lösung, Begasung: 2o % O_2 und 5 % CO_2 bei den Versuchen 1, 2, 3, 5, 7, 8, 9, 17 und 18:

G: $\bar{Q}_{O_2} = -4,51$, $\bar{Q}_{CO_2} = 6,17$, $\bar{Q}_M = 1,66$

Ö: $\bar{Q}_{O_2} = -4,76$, $\bar{Q}_{CO_2} = 6,86$, $\bar{Q}_M = 2,13$

Serie 4: 5 mM Glukose in der K-Lösung, Begasung: 4o % O_2 und 5 % CO_2 beim Versuch 29:

$\bar{Q}_{O_2} = -5,71$, $\bar{Q}_{CO_2} = 5,93$, $\bar{Q}_M = o,22$

Serie 5: 5 mM Glukose in der K-Lösung, Begasung: 12 % O_2 und 5 % CO_2 bei den Versuchen 4 und 6:

G: $\bar{Q}_{O_2} = -4,32$, $\bar{Q}_{CO_2} = 7,28$, $\bar{Q}_M = 2,97$

Ö: $\bar{Q}_{O_2} = -4,56$, $\bar{Q}_{CO_2} = 7,82$, $\bar{Q}_M = 3,28$

Serie 6: 5 mM Glukose in der K-Lösung, Begasung: 2o % O_2 und 6,3 % CO_2 bei den Versuchen 1o, 11, 14 und 2o:

G: $\bar{Q}_{O_2} = -5,16$, $\bar{Q}_{CO_2} = 7,17$, $\bar{Q}_M = 2,oo$

Ö: $\bar{Q}_{O_2} = -5,23$, $\bar{Q}_{CO_2} = 7,5o$, $\bar{Q}_M = 2,27$

Serie 7: 5 mM Glukose in der K-Lösung, Begasung: 2o % O_2 und 4 % CO_2 bei den Versuchen 19, 22, 23, 24 und 32:

$\bar{Q}_{O_2} = -4,34$, $\bar{Q}_{CO_2} = 7,08$, $\bar{Q}_M = 2,72$

Bei allen Serien zeigte das Kälteödem höhere Q-Werte als die Kortexschnitte, die nur durch die Inkubation ödematisiert waren. Das ödematöse Hirngewebe läßt eine leicht stimulierte Atmung erkennen, während seine aerobe Glykolyse stark gesteigert ist (DITTMANN et al.). Serie 2 - physiologische Bedingungen: sowohl bei der Begasung als auch bei der Glukose-Konzentration (5 mM Glukose = 9o mg % Glukose) - beinhaltet die höchsten Q-Werte. Mit zunehmender Glukose-Konzentration zwischen 2,5 mM und 5 mM in der Inkubationslösung nimmt das Q_M zu, der Unterschied zwischen 5 mM und 1o mM Glukose in der K-Lösung ist nicht ausgeprägt (DITTMANN et al.). Bei der Begasung mit steigendem CO_2-Partialdruck kann man erkennen, daß das Q_{O_2} zu und das Q_M abnimmt.

Ohne Zugabe von Substanzen ist im Durchschnitt keine Steigerung von Respiration und Milchsäure-Bildung im Laufe des Versuches erfolgt; meistens zeigt sich eine Abnahme der Atmung. Nur vereinzelt, unregelmäßig und ohne Erkennen einer Gesetzmäßigkeit, steigen die Q-Werte leicht an während der Dauer der Stoffwechselmessung.

Welche Wirkungen auf die Q-Werte erzielen die ver-

schiedenen Substanzen, die zugekippt werden?

Zugabe von Glukose in allen Konzentrationen (6,5 mM, 1o mM, 15 mM und 2o mM) läßt keine deutliche und einheitliche Wirkung auf Atmung und Milchsäure-Bildung im Vergleich zur Kontrolle erkennen.

Das gleiche gilt für die Zugabe von 5 mM G-1-P.

Zugabe von 2 mM, 5 mM und 1o mM G-6-P :

In den drei Versuchen bedingt diese Substanz eine vorübergehende Steigerung der Milchsäure-Entstehung in den durch Kälte ödematisierten Hirnrindenschnitten, was sich zum Teil in den Q_{CO_2}-Werten wiederspiegelt.

1o mM F-1-P erhöhen bei beiden Ödemtypen den Sauerstoff-Verbrauch und die Kohlendioxyd-Bildung vorübergehend.

5 mM F-6-P forcieren in der Zeit von 3o bis 7o Minuten nach Zukippen Atmung und Milchsäure-Bildung, danach erfolgt ein geringer Abfall der Q-Werte, während 1o mM F-6-P keinen einheitlichen Effekt erzielen.

Weder 5 mM noch 1o mM Sorbit vermögen die Abnahme der Q-Werte im Verlauf der Stoffwechselmessung aufzuhalten, es scheint sogar, daß seine Anwesenheit diesen Rückgang zum Teil beschleunigen.

Zugabe von F-1,6-P_2 :

In den beiden geringen Konzentrationen 1,6 mM und 2 mM erzielt das Fruktosediphosphat sowohl auf Atmung als auch auf die Milchsäure-Bildung keine eindeutige Wirkung. 5 mM F-1,6-P_2, vor allem als Natrium-Salz, steigern bei beiden Ödemformen besonders direkt nach

Zugabe O_2-Verbrauch, Milchsäure-Entstehung und auch CO_2-Bildung. Einen zwei- bis dreimal stärkeren Effekt bedingt die Zufuhr von 1o mM Fruktosediphosphat; beim Natrium-Salz ist die Wirkung ausgeprägter als beim Kalzium-Salz. Die Erhöhung von Sauerstoff-Verbrauch, Kohlendioxyd- und Milchsäure-Bildung wird zum Teil während der ganzen Versuchsdauer nachgewiesen. Diese signifikanten Veränderungen sind beim Inkubations- und Kälteödem annähernd gleich.

Die Ausgangssubstanzen (Fruktose, PO_4^{3-}) und die Spaltprodukte des Fruktosediphosphats (DAP, GAP) sowie Kalziumionen erreichen nicht den deutlichen Effekt des Diphosphats mit Ausnahme des Gemisches DAP plus GAP, das kurz nach Zugabe die Q-Werte enorm ansteigen läßt, um dann unter den Anfangswert abzusinken.

Anhand dieser Befunde wird nachgewiesen, daß das Fruktosediphosphat in der Konzentration von 1o mM im Vergleich zu den anderen zugekippten Substanzen die ausgeprägteste und vor allem am längsten anhaltende Steigerung des Sauerstoff-Verbrauchs, der Kohlendioxyd- und Milchsäure-Bildung verursacht.

ad 3. Das ödematöse Gehirn zeigt eine gesteigerte Atmung, erhöhte aerobe und vor allem anaerobe Glykolyse (HERRMANN und DITTMANN, siehe auch Tabelle 4.2.). Im Gegensatz zu normalen Astrozyten lassen geschwollene einen Anstieg oxydativer Enzyme erkennen (FRIEDE); die Astrozyten führen einen überwiegend glykolyti-

schen Stoffwechsel durch (OPITZ, SHIMIZU et al. und WEIL-MALHERBE).

Der normale Glukosegehalt des Gehirns von 3 bis 4 µMol pro g Gewebe fällt aufgrund der Laktat-Bildung post mortem auf zirka ein zehntel des Ausgangswertes ab (MCILWAIN et al.). In vivo beläuft sich der Glukosegehalt des Gehirns auf 36 % der Plasmakonzentration (KLEIN et al.), Inkubation von Hirnschnitten in Glukoselösung (1o mM) läßt die Gewebs-Glukose auf 73 % der Konzentration der Inkubationslösung ansteigen (MCILWAIN et al.).

Sofort post mortem enthalten Hirnschnitte zirka 9 µMol Milchsäure pro g Gewebe, von dem der größte Anteil jedoch in die Inkubationslösung übergeht. Die Laktat-Bildung der Kortexschnitte ist bei Inkubationen in Glukoselösungen von 2,5 mM bis 1o mM annähernd gleich (MCILWAIN) und beträgt etwa 2o bis 3o µMol pro g Gewebe und Stunde (MCILWAIN et al. und RODNIGHT et al.). 9o bis 97 % des im Hirngewebe gebildeten Laktats werden im Inkubations-Medium wiedergefunden (MCILWAIN et al.).

Es kann angenommen werden, daß auch die gleiche prozentuale Menge des Gesamt-Pyruvats, das in den Hirnrindenschnitten entstand, in die Inkubationslösung abfließt.

Die Glukose-Konzentrationen der reinen Inkubationslösungen bewegen sich in den vorliegenden Versuchen zwischen 2,5 mM und 1o mM.

Glukose, Laktat und Pyruvat werden enzymatisch in der Inkubationslösung nachgewiesen und auf µg pro mg Trockensubstanz des Hirngewebes und Stunde berechnet. Der Wert des Glukose-Verbrauchs ist die Differenz zwischen der ursprünglichen Glukosemenge der K-Lösung und der wiedergefundenen Menge. Die Laktat- und Pyruvat-Werte spiegeln nach MCILWAIN 9o bis 97 % der im Gewebe gebildeten Mengen wieder.

Ohne Zugabe von Substanzen liegen die Glukose-, Laktat- und Pyruvat-Werte des durch Kälteapplikation ödematisierten Hirngewebes generell höher als diejenigen der Hirnschnitte, die nur das inkubationsbedingte Ödem zeigen.

Besteht die Möglichkeit, durch Zugabe von Substanzen, die im Verlauf des Glukose-Abbaus nach dem EMBDEN-MEYERHOF-PARNAS-Schema als Intermediärprodukte auftreten, den Glukose-Verbrauch und somit auch die Laktat- und Pyruvat-Bildung der Kortexschnitte zu beeinflussen?

Zugabe von Glukose in den Konzentrationen 6,5 mM, 1o mM, 15 mM und 2o mM :

Im Gewebe beider Ödemarten wird die Glukose-Utilisation signifikant gesteigert, eine Konzentrationsabhängigkeit wird aber nicht eindeutig nachgewiesen. Laktat- und Pyruvat-Entstehung werden nur unwesentlich erhöht, der Laktat-Pyruvat-Quotient ist sogar nach Zugaben von 1o mM und 2o mM Glukose bei beiden Ödemformen deutlich vermindert.

Zugabe von 5 mM G-1-P :

Aufgrund der Umwandlung von Glukose-1-phosphat in Glukose-6-phosphat (siehe Zugabe von F-6-P) wird nach dem Versuch mehr Glukose gefunden als zu Beginn in der Inkubationslösung vorhanden war; beim Kälteödem tritt dieser Effekt deutlicher hervor. Die Laktat-Bildung ist gering verstärkt, beim Kälteödem nimmt die Pyruvat-Entstehung sogar ab. Der Laktat-Pyruvat-Quotient ist in beiden Fällen vergrößert.

Zugabe von G-6-P in den Konzentrationen 2 mM, 5 mM und 1o mM :

Nach dem Zukippen von Glukose-6-phosphat wird eine scheinbar starke Steigerung des Glukose-Verbrauchs in den Versuchen 8, 9 und 1o beobachtet. Tatsächlich wird jedoch ein Teil des G-6-P von der Phosphoglukose-Isomerase des Inkubations-Mediums in F-6-P umgelagert und entzieht sich so der chemischen Bestimmung, ohne aber abgebaut worden zu sein. Laktat- und Pyruvat-Bildung werden nur gering beeinflußt, der Laktat-Pyruvat-Quotient nimmt wenig zu, etwas ausgeprägter beim Kälteödem.

Zugabe von 1o mM F-1-P :

Etwas mehr Glukose wird verbraucht und etwas mehr Laktat wird gebildet, der Abbau zum Pyruvat ist aber unverändert. Der Laktat-Pyruvat-Quotient ist leicht erhöht.

Zugaben von 5 mM und 1o mM F-6-P :

Bei der Zugabe von Fruktose-6-phosphat ergeben sich negative Werte des Glukose-Verbrauches, weil bei der

Bestimmung von Glukose mit Hexokinase und Glukose-6-phosphat-Dehydrogenase Glukose plus Glukose-6-phosphat erfaßt werden. In den Inkubationslösungen vorhandene Phosphoglukose-Isomerase, die aus den Hirnschnitten freigesetzt wird (TRAUTMANN), lagert einen Teil des Fruktose-6-phosphats in Glukose-6-phosphat um und erhöht so scheinbar die Glukosekonzentration. Dasselbe gilt für die Zugabe von Glukose-1-phosphat.

Das zugekippte F-6-P tingiert die Laktat- und Pyruvat-Bildung nicht wesentlich, was sich auch in den Laktat-Pyruvat-Quotienten wiederspiegelt.

Zugabe von Sorbit in den Konzentrationen 5 mM und 1o mM :

Sorbit zeigt keinen Einfluß auf die angegebenen Stoffwechselwerte.

Zugabe von F-1,6-P_2 in den Konzentrationen 1,6 mM, 2 mM, 5 mM und 1o mM :

Eine Tendenz, die Glukose-Utilisation zu steigern, ist vor allem bei den Konzentrationen 5 mM und 1o mM des Natrium-Salzes des Fruktosediphosphats zu verzeichnen. Die Laktat-Bildung ist gering erhöht, während die Pyruvat-Bildung in fast allen Versuchen deutlich vermindert ist. Der Anstieg des Laktat-Pyruvat-Quotienten ist ausgeprägt.

Wie anhand der Q-Werte nach Zugabe von Fruktosediphosphat verdeutlicht, so läßt sich auch hier die Vermutung äußern, daß das Fruktosediphosphat den Abbau der Glukose über das EMBDEN-MEYERHOF-PARNAS-Schema

hinaus bis zum Ende der Atmungskette verstärkt.

Zugabe der Ausgangssubstanzen (Fruktose, PO_4^{3-}) und Spaltprodukte des F-1,6-P_2 (DAP, GAP), sowie Zugabe von Kalziumionen in verschiedenen Konzentrationen:

Der Glukose-Verbrauch in den Hirnrindenschnitten bleibt unverändert oder wird sogar verringert, die Laktat-Bildung wird nur durch Na_2HPO_4 leicht gesteigert, ebenfalls die Pyruvat-Entstehung, die bei Zugabe der übrigen Substanzen annähernd gleich bleibt. Der Laktat-Pyruvat-Quotient wird nicht erhöht.

ad 4. Wieviel mM Fruktosediphosphat werden im Laufe des Versuches verbraucht und welche Menge Triosephosphat wird am Ende des Versuches gefunden?

Welches Schicksal erleiden die zugegebenen Triosephosphate DAP und GAP?

Der Ausdruck "Standard" in der Tabelle 4.4. kennzeichnet die tatsächlich vorhandenen, photometrisch gemessen, und effektiv zugekippten Konzentrationen von F-1,6-P_2, DAP bzw. GAP. Aus folgenden Gründen variieren sie mit den in den übrigen Tabellen theoretisch aufgeführten Konzentrationen:

1. Die von der Firma BOEHRINGER, Mannheim, gelieferten Substanzen, die in der vorliegenden Arbeit verwendet wurden, liegen aus herstellungstechnischen und Haltbarkeits-Gründen zum Teil nicht in reiner Form vor, sondern die Firma garantiert einen prozentualen Mindestgehalt dieser Substanzen einer

Charge, der unter Umständen jedoch nach oben abweichen kann.

2. Das von der Firma BOEHRINGER, Mannheim, hergestellte GAP ist, ebenfalls aus produktionstechnischen Gründen, durch DAP verunreinigt.

F-1,6-P_2 in der Tabelle bezeichnet den Verbrauch durch die Hirnschnitte während des WARBURG-Versuches; nach der Zugabe von DAP und GAP wird jedoch durch teilweise Umwandlung (Triosephosphat-Isomerase) und Zusammenlagerung der Triosephosphate die Verbindung Fruktosediphosphat gefunden.

Die Utilisation des Fruktosediphosphats über den EMBDEN-MEYERHOF-PARNAS-Abbau verläuft über die Spaltung in zwei Triosephosphate, DAP (C-1 bis C-3) und GAP (C-4 bis C-6), wobei das Gleichgewicht bei 89 % Hexose und 11 % Triosegemisch liegt. Diese Spaltung wird durch das Enzym Aldolase bis zum Gleichgewicht katalysiert.

Die Ketotriose (DAP) und die Aldotriose (GAP) stehen über die gemeinsame Enolform in einem Gleichgewicht, das zu 96 % auf seiten der Ketoform, d.h. DAP, liegt. Durch das Enzym Triosephosphat-Isomerase, dessen Umsatzzahl mehrere hunderttausend Moleküle pro Minute beträgt, wird diese Gleichgewichtseinstellung beschleunigt.

Für den weiteren Abbau wird aber die Aldoform der Triose, d.h. GAP, benötigt, welche nach Verbrauch durch die sich anschließende Reaktion sofort wieder

mit Hilfe des Enzyms Triosephosphat-Isomerase aus der Ketoform nachgeliefert wird (KARLSON).

Vorstehende Erläuterung ist der Beweis dafür, daß nach Ablauf des WARBURG-Versuches nur das in wesentlich größerer Menge vorliegende DAP chemisch nachgewiesen werden kann.

Fruktosediphosphat-Utilisation durch die inkubierten Kortexschnitte, gemessen in mM :

Bei Zugabe von Fruktosediphosphat in steigender Konzentration nimmt der absolut gemessene Verbrauch zu, aber nicht linear. F-1,6-P_2-Zugabe als Natrium-Salz erfolgte in den Konzentrationen (Mittelwerte) : 1,73 mM, 2,o3 mM, 5,o9 mM und 1o,55 mM, davon wurden durchschnittlich verbraucht: o,73 mM, o,94 mM, 1,39 mM bzw. 1,7o mM.

Relativ gesehen läßt sich folgende Aussage treffen: Von 1,73 mM F-1,6-P_2 werden 42,3 % verstoffwechselt, von 2,o3 mM 46,4 %, von 5,o9 mM 27,3 % und von 1o,55 mM 16,1 %, also ein prozentualer Abfall des Verbrauchs bei steigender Konzentrationszugabe unter der Berücksichtigung, daß die Zugabe von F-1,6-P_2 in den Konzentrationen 1,73 mM und 2,o3 mM nicht die statistische Aussagekraft wie die beiden anderen Konzentrationszugaben besitzen, da sie in jeweils nur einem Versuch angewandt wurden.

Bei der Zugabe von Fruktosediphosphat als Kalzium-Salz in den Konzentrationen 5,7o mM und 11,18 mM mit einem Verbrauch von 1,38 mM (=24,2 %) bzw. 2,86 mM

(=25,6 %) im Vergleich zur Fruktosediphosphat-Zugabe als Natrium-Salz in den gleichen Konzentrationen läßt sich keine eindeutige Utilisationsdifferenz nachweisen.

Das durch Kälteapplikation ödematisierte Hirngewebe verstoffwechselt gleich viel Fruktosediphosphat wie das durch die Inkubationslösung ödematisierte Gewebe: von 2,o3 mM werden o,94 mM (=46,4 %) und von 9,35 mM werden 1,47 mM (=15,7 %) verbraucht.

Welche Menge DAP wird am Versuchsende nachgewiesen, das durch die Spaltung des verschwundenen Fruktosediphosphats entsteht?

Von o,73 mM verbrauchtem F-1,6-P_2, als Natrium-Salz, werden o,68 mM als DAP, von o,94 mM werden 1,63 mM als DAP, von 1,39 mM werden 1,56 mM als DAP und von 1,7o mM werden 1,53 mM als DAP wiedergefunden.

Von 1,38 mM verschwundenem F-1,6-P_2, als Kalzium-Salz, werden 1,38 mM als DAP und von 2,86 mM werden 2,oo mM als DAP nachgewiesen. Eine statistische Aussage kann nicht gemacht werden, da das Fruktosediphosphat als Kalzium-Salz nur in zwei Versuchen zugegeben wurde; in weiteren Versuchen wäre noch zu klären, ob das Kalzium-Salz des Diphosphats ausgiebiger als das Natrium-Salz abgebaut wird.

Das durch Kälte ödematisierte Hirnrindengewebe verbraucht von 2,o3 mM zugekipptem Fruktosediphosphat o,94 mM und verstoffwechselt es bis auf einen Rest von 1,58 mM als wiedergefundenem DAP über die Triosephosphatstufe hinaus, bei Zugabe von 9,35 mM Fruktose-

diphosphats baut es von den verbrauchten 1,47 mM sogar alles über die Triosephosphatstufe hinaus ab; es wird kein DAP wiedergefunden.

Um eine exakte Bewertung dieser Untersuchung zu gewinnen, muß die Tatsache zur Grundlage dienen, daß aus der Spaltung von 1 Mol Fruktosediphosphat 2 Mol Triosephosphat resultieren. Folglich wird nachgewiesen, daß es bei steigendem absolutem F-1,6-P_2-Verbrauch zu einem verstärkten Abbau über die Triosephosphatstufe hinaus kommt:

1,39 mM F-1,6-P_2 ergeben durch Spaltung 2,78 mM Triosephosphat, von denen 1,56 mM wiedergefunden werden - 1,22 mM Triosephosphat = 43,9 % werden weiter verstoffwechselt, 1,7o mM F-1,6-P_2 werden in 3,4o mM Triosephosphat gespalten, von denen 1,53 mM wiedergefunden werden - 1,87 mM Triosephosphat = 55 % werden weiter abgebaut. Dieser Wert beträgt bei dem durch Kältetrauma ödematisierten Kortexgewebe sogar 1oo %.

Welche Erkenntnis kann man aus der Zugabe der Fruktosediphosphat-Bruchstücke DAP und GAP zu den Hirnrindenschnitten gewinnen?

Von 2,o4 mM zugekipptem GAP (DAP und GAP stehen über das Enzym Triosephosphat-Isomerase im Gleichgewicht) werden o,9o mM für die Bildung von o,45 mM F-1,6-P_2 verwendet, o,76 mM werden als DAP wiedergefunden und o,38 mM = 18,6 % werden weiter abgebaut. Von 2,88 mM zugegebenem DAP werden 1,88 mM zur Entstehung von o,94 mM F-1,6-P_2 herangezogen, o,6o mM wiedergefunden

und o,4o mM = 13,9 % werden verstoffwechselt.

Von insgesamt 4,93 mM DAP plus GAP gehen 3,44 mM in die Bildung von 1,72 mM F-1,6-P_2 ein, 1,46 mM sind am Ende des Versuches als DAP noch vorhanden, nur o,o3 mM = o,61 % werden im Hirngewebe weiter abgebaut.

Folglich wird vom zugekippten Fruktosediphosphat wesentlich mehr als von den zugegebenen Triosephosphaten, den Spaltprodukten des Fruktosediphosphats, im Rahmen der Glykolyse über die Triosephosphatstufe hinaus abgebaut.

ad 5. FRANCK et al. untersuchten den Gesamtionengehalt des Gehirns vor Inkubation und fanden für Natrium den Wert 54,3 ± 7,4 µäqu pro g Frischgewebe und für Kalium den Wert 12o,8 ± 2,9 µäqu pro g Frischgewicht.

Wenn die Hirnschnitte inkubiert werden, gehen große Mengen Kalium verloren, während sich der Natriumgehalt praktisch verdoppelt (BOURKE et al., KEESEY et al., MCILWAIN, TOWER et al. und VARON et al.). Im Laufe der ersten Minute der Inkubation ereignet sich diese Veränderung rapide (BACHELARD et al.), das Maximum dieser Kationenverschiebungen ist bald erreicht.

Nach einer Minute Inkubation beträgt der Na^+-Gehalt 92,8 µäqu pro g Schnittfrischgewicht, der K^+-Gehalt 84,2 µäqu pro g Frischgewicht, nach einer Stunde ist der Wert für Natrium auf 128,5 µäqu pro g Frischgewicht gestiegen, der Kaliumwert auf 35,2 µäqu pro g Frischgewicht gefallen (FRANCK et al.).

Der Kationengehalt des Hirngewebes kann sich ändern sowohl als Ergebnis geänderter Diffusionsbedingungen als auch aufgrund einer Variation des aktiven Transports (LUND-ANDERSEN et al.). Die Diffusion wird beeinflußt durch den Schwellungsanstieg des kältegeschädigten Gewebes und auch während der Inkubation. Eine Glukosestoffwechselstörung, die zu Beginn des Ödems nachgewiesen werden kann (PALLESKE, HERRMANN und LOEW), bedingt eine energetische Insuffizienz der Zelle, und folglich kommt der aktive Ionentransport zum Erliegen. Etwa ein viertel der Atmungsenergie wird für den optimalen Natrium- und Kalium-Transport benötigt (OKAMOTO et al.).

Das Schema der "Natriumpumpe", die bei ausreichend vorhandener Energie die Ionenkonzentrationsgradienten zwischen Intrazellular- und Extrazellular-Raum aufrechterhält, wird von einigen Autoren (SEN et al., SKOU und WHITTAM) folgendermaßen erklärt:

Eine Komponente der durch Natrium und Kalium stimulierten ATPase wird phosphoryliert und verbindet sich mit einem intrazellulären Natriumion. Diese Verbindung wandert durch die Zellmembran und gibt das Na^+ in die Inkubationslösung ab. Darauf wird die freigewordene Bindung durch ein extrazelluläres Kaliumion besetzt. Diese neu entstandene Konjugation passiert wiederum die Zellmembran und bringt so ein Kaliumion in die Zelle. Um diese Reaktion wiederholen zu können, muß die Transportkomponente neu phosphoryliert werden,

wozu ein weiteres Molekül ATP erforderlich ist.

Daraus ergibt sich, daß der aktive Ionentransport nur so lange abläuft, wie ATP vorhanden ist. Von OKAMOTO et al. wurde nachgewiesen, daß die Beziehung zwischen ATP-Konzentration und Wasseraufnahme umgekehrt proportional ist. Aufgrund dieser Tatsache kann man vermuten, daß durch eine Stoffwechselsteigerung des Gehirns und folglich ATP-Bereitstellung ein Hirnödem beseitigt oder sogar verhindert werden kann.

Die in der Tabelle aufgeführten Versuche entstammen zwei Untersuchungsreihen mit verschiedener Dauer der Inkubation und Stoffwechselmessung. Versuche von insgesamt zirka 9o Minuten Dauer: 15, 21, 28, 29, 3o und 31. Alle übrigen Versuche zeigen eine Inkubationsdauer von etwa 15o Minuten.

In der Tabelle sind jeweils für Natrium und auch für Kalium zwei Werte, der theoretisch berechnete und der tatsächlich gemessene, und die Differenz von beiden angegeben.

Berechnung des theoretischen Wertes:

Kationengehalt des Originalgehirns (siehe Abhandlung Methodik: vor der weiteren Präparation des Hirngewebes zur Inkubation und Stoffwechselmessung wurde ein Stück Hirnrinde entnommen, um seinen Wasser- und Ionengehalt zu bestimmen) plus Kationenmenge, die mit dem Schwellungswasser in das Gewebe eingeströmt ist; unter der Annahme, daß die eingedrungene Flüssigkeit die gleiche ionale Zusammensetzung wie die Inkubationslösung ent-

hält.

Der tatsächliche Ionengehalt wurde nach Versuchsende flammenphotometrisch ermittelt.

Theoretische Werte:

Der Natriumgehalt der Hirnschnitte, die nur eine Schwellung durch 9o-minütige Inkubation zeigen, beträgt im Durchschnitt 16,o mVal pro 1oo g Frischgewicht, der entsprechende Kaliumwert 1o,3 mVal pro 1oo g Frischgewicht.

Befunde nach 15o Minuten Inkubation: Die Natriumkonzentration der Kortexschnitte mit reinem Inkubations-Ödem liegt im Mittel bei 2o,3 , der dazugehörige Kaliumwert bei 11,o mVal pro 1oo g Frischgewicht. Die Ionenkonzentration des außerdem durch Kälteapplikation ödematisierten Hirngewebes zeigt für Na^+ einen Durchschnittswert von 21,3 , für K^+ den Mittelwert von 11,8 mVal pro 1oo g Frischgewicht.

Tatsächlich gefundene Kationenkonzentrationen:

Nach 9o Minuten Inkubation wird in den Hirnschnitten mit reinem Inkubations-Ödem für Na^+ ein Konzentrationsmittelwert von 18,4 , für K^+ ein Durchschnittsgehalt von 3,7 mVal pro 1oo g Frischgewicht nachgewiesen.

Nach 15o Minuten Versuchsdauer zeigt die Na^+-Konzentration der Schnitte, die nur die Schwellung durch die Inkubation erfuhren, einen gemittelten Wert von 24,o , die K^+-Konzentration 4,2 mVal pro 1oo g Frischgewicht. Die entsprechenden Werte der Kortexschnitte mit Kälteödem liegen für Natrium bei 23,4 , für Kalium

bei 4,5 mVal pro 1oo g Frischgewicht.

Daraus folgernd lassen sich drei Tatsachen ableiten:

1. Die Natriumwerte der 15o Minuten dauernden Versuche liegen bei deutlich höheren Konzentrationen, die Kaliumwerte unterscheiden sich nicht signifikant.
2. Die tatsächlich gemessenen Natrium-Konzentrationen sind immer größer als die theoretisch errechneten, bei den Kalium-Konzentrationen verhält es sich umgekehrt. Folglich ist entweder die ionale Zusammensetzung des Schwellungswassers nicht die gleiche wie die der Inkubationslösung oder und es erfolgt eine Kationenverteilung aufgrund aktiver Prozesse, denn die Differenz zwischen den Kaliumwerten (theoretisch minus tatsächlich) ist immer ausgeprägt größer als zwischen den Natriumwerten (tatsächlich minus theoretisch).
3. Die sich entsprechenden 15o-Minuten-Werte für beide Ödemtypen zeigen keine deutlichen Unterschiede. Das Hirnrindengewebe scheint einen "Ionenpool" von einer bestimmten Größe zu besitzen, die nicht überschritten werden kann.

Welche Veränderungen erfahren die Kationenkonzentrationen der inkubierten Kortexschnitte durch die Zugabe verschiedener Substanzen?

Zugaben von 1o mM und 2o mM Glukose bewirken keine signifikanten Änderungen der Ionenkonzentrationen.

Für das Zukippen von 5 mM und 1o mM F-6-P trifft die

gleiche Aussage zu.

Zugabe von F-1,6-P_2 :

Erst die Zugabe von 5 mM Fruktosediphosphat, sowohl als Natrium- als auch als Kalzium-Salz, läßt eine deutliche Wirkung erkennen, und zwar wird die Na^+-Konzentration des Hirngewebes erhöht, während die K^+-Konzentration annähernd gleich bleibt. 1o mM Fruktosediphosphat, als Na^+- und Ca^{2+}-Salz, zeigen denselben Effekt auf die Natrium-Konzentration sowohl beim inkubations- als auch beim kältebedingten Ödemgewebe, jedoch in stärkerem Ausmaße. Der Kaliumgehalt wird ebenfalls nicht signifikant tingiert. Versuchsdauer und Ödemtyp spielen bei diesem Befund insofern keine Rolle, da die mittlere Natriumkonzentrations-Zuwachsrate in allen Fällen 2,2 mVal pro 1oo g Frischgewicht beträgt.

Zugaben von 1o mM Fruktose, 5 mM und 6 mM Na_2HPO_4, 5 mM $CaCl_2$, 5 mM Fruktose + 3 mM Na_2HPO_4, 1,5 mM DAP, 1,5 mM GAP und 1,5 mM DAP + 1,5 mM GAP :

Nur das Gemisch der Fruktosediphosphat-Bruchstücke, in der Konzentration von jeweils 1,5 mM, erzielt eine deutliche Erhöhung der Na^+-Konzentration, dieser Effekt ist aber geringer als nach Zugabe von 1o mM Fruktosediphosphat.

JOANNY et al. suchten ebenfalls durch Zwischenprodukte der Glykolyse (2o mM G-1-P, G-6-P bzw. F-1,6-P_2) einen Effekt auf inkubierte Hirnschnitte nachzuweisen. Ihre Befunde lauten: G-1-P und G-6-P verändern den K^+-Gehalt nicht, Fruktosediphosphat bewirkt eine leichte

K^+-Gehaltserniedrigung. Die Na^+-Konzentration wird weder durch G-1-P noch durch G-6-P signifikant beeinflußt, nach Zugabe von Fruktosediphosphat ist eine geringe Erhöhung des Na^+-Gehaltes zu verzeichnen. Nach JOANNY et al. wird die Schwellung durch keine der Substanzen erniedrigt. Sie nehmen an, daß diese Substanzen nicht in die Zellen eindringen können: entweder ist die Zellmembran für sie impermeabel oder es fehlt ein Transportsystem.

ad 6. Inulin wird seit vielen Jahren als Markierer des extrazellulären Raumes unter der Voraussetzung benutzt, daß es sich im gesamten Volumen der extrazellulären Flüssigkeit gleichmäßig verteilt. Das Molekulargewicht des Inulin variiert, abhängig von der Präparationsmethode, zwischen 900 und 5600. Der größte Inulinanteil hat jedoch ein Durchschnittsmolekulargewicht von 2000, was auf eine Mischung verschiedener Inulin-Polymere zurückzuführen ist (FRANCK et al.).

Bei der Inulinverteilung in inkubierten Kortexschnitten spielt die Pinozytose keine ausschlaggebende Rolle. Diese Tatsache wurde von PAPPIUS et al. und VARON et al. anhand ausgedehnter Untersuchungsreihen nachgewiesen. Dennoch vermutete ALLEN, daß Inulin durch abgeschnittene Axonenden in die Nervenzellen einströmen könnte. Diese Annahme wird aber durch die Beobachtung DE CASTILLO's widerlegt: er stellte eine augenblickliche Eigen-Abdichtung angeschnittener Zellausläufer

fest.

Viele Autoren fanden für die Größe des Extrazellular-Raumes inkubierter Hirnrindenschnitte, unabhängig von den untersuchten Tierspezies, Werte zwischen 45 und 55 % (BOURKE et al., PAPPIUS et al., TOWER et al. und VARON et al.). Unterschiedliche Schwellungsausmaße inkubierter Hirnschnitte, bedingt durch verschiedene Noxen (z.B. Anoxie, hohe K^+-Konzentrationen des Inkubationsmediums), interferieren nicht mit Volumenänderungen des Inulin-Raumes, er bleibt stets gleich groß, im Durchschnitt 47,4 % (FRANCK et al.). BOURKE et al., KEESEY et al., PAPPIUS, PAPPIUS et al. und VARON et al. kamen zur selben Erkenntnis.

Dies scheint zu beweisen, daß die Flüssigkeitsaufnahme inkubierter Kortexschnitte hauptsächlich in den Intrazellular-Raum erfolgt.

Inulin ist fast ausschließlich im Extrazellular-Raum lokalisiert und die Ionenkonzentration darin ist gleich der des Inkubationsmediums (HAGEMEIJER et al. und SCHOFFENIELS et al.). Die Differenz zwischen Frischgewicht und Trockengewicht entspricht der Gesamtmenge der Flüssigkeit der Schnitte, andere gelöste Stoffe sind wegen ihrer geringen Raumeinnahme zu vernachlässigen klein. Der Nicht-Inulin-Raum, also die Differenz zwischen Gesamt-Wassergehalt und Inulin-Raum der Hirnschnitte ist definitionsgemäß der Intrazellular-Raum (FRANCK et al.). Auch in der vorliegenden Arbeit wird der Intrazellular-Raum durch diese Berechnung ermittelt.

Welche Werte für Extra- und Intrazellular-Raum werden in unserer Arbeit gefunden und wie verändern sie sich nach Zugaben verschiedener Substanzen?

Die Größe des Extrazellular-Raumes von Kortexschnitten, die nur der inkubationsbedingten Schwellung ausgesetzt waren, belief sich im Mittel auf 45,1 µl Wasser pro 1oo mg Frischgewicht. Der Wert des Extrazellular-Raumes von Hirnrindenschnitten, die außerdem durch Kälteapplikation ödematisiert waren, beträgt in Durchschnitt 47,2 µl Wasser pro 1oo mg Frischgewicht. Die angegebene Dimension der Werte für den EZR entspricht der Prozentangabe; somit stimmen diese Ergebnisse mit dem Mittelwert 47,4 % (FRANCK et al.) völlig überein.

Der Intrazellular-Raum von Hirnschnitten, die nur das durch die Inkubation verursachte Ödem zeigen, umfaßt im Mittel 43,5 µl Wasser pro 1oo mg Frischgewicht; der entsprechende Durchschnittswert der kälteödematisierten Hirnrindenschnitte beträgt 41,9 µl Wasser pro 1oo mg Frischgewicht, also kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen beiden Ödemtypen. Dieses Ergebnis läßt vermuten, daß die Zellen der Hirnrinde eine vorgegebene Flüssigkeitsaufnahme-Kapazität besitzen, die nicht überschritten werden kann, solange die Zellwände intakt sind. Das Maximum der Wasseraufnahme der einzelnen Zelle wird entweder allein durch die inkubationseigene Schwellung oder durch das kälte- plus inkubationsbedingte Ödem erreicht.

Welche Veränderungen erfahren Extra- und Intra-

zellular-Raum durch Zugabe verschiedener Zuckerphosphate?

Zugabe von 5 mM G-1-P bewirkt sowohl beim nur-inkubierten Hirngewebe als auch beim kältegeschädigten Hirngewebe eine leichte, jedoch signifikante Zunahme des EZR zugunsten einer Abnahme des IZR von annähernd gleichem Ausmaße.

Derselbe Effekt wird durch die Zugabe von 5 mM G-6-P in den Hirnschnitten mit reinem Inkubationsödem erzielt, das Hirngewebe mit Kälteödem läßt keinen eindeutigen Unterschied bei gleicher Menge zugekipptem G-6-P erkennen.

5 mM F-1,6-P_2 verursachen keine ausgeprägte Wirkung auf die ödematisierten Kortexschnitte. Eine stärkere Abschwellung ödematisierter Hirnrindenschnitte wird nach Zugabe von 1o mM Fruktosediphosphat, sowohl als Natrium- als auch als Kalzium-Salz, nachgewiesen; das Natrium-Salz des Diphosphats zeigt diesen Effekt deutlicher als das Kalzium-Salz. Das Fruktosediphosphat als Na^+-Salz erzielt eine durchschnittliche Wasserausschwemmung von 13,6 µl Wasser pro 1oo mg Frischgewicht aus dem Intrazellular-Raum. Der größte Anteil der ausgeschleusten Flüssigkeit fließt in den Extrazellular-Raum ab, der Rest geht wahrscheinlich in das Inkubationsmedium über.

Durch in vivo-Versuche, unter der Voraussetzung, daß das Fruktosediphosphat in vivo den gleichen Effekt erringt, wäre nun zu klären, ob das aus den Zellen

verdrängte Wasser über den Extrazellular-Raum in die Blutbahn einströmt, sonst fände gleichsam nur eine Verlagerung des Ödems aus dem IZR in den EZR statt.

ad 7. Unter der Voraussetzung, daß die Dichte des Hirngewebes 1 beträgt (FRANCK et al.), wird die Berechnung des Kationengehaltes der intrazellulären Flüssigkeit folgendermaßen durchgeführt:

Vom Gesamt-Ionengehalt des Hirngewebes wird der extrazelluläre Ionengehalt subtrahiert, der gleich dem des Inkubationsmediums ist. Dieser Wert, der sich auf 1oo mg Frischgewicht bezieht, wird anschließend durch die Größe des Intrazellular-Raumes (= Frischgewicht minus Trockengewicht minus EZR) dividiert und auf 1 l intrazelluläres Wasser umgerechnet.

Unter dauernder Sauerstoffzufuhr während der Inkubation (8 l O_2 pro Stunde) fanden FRANCK et al. eine Na^+-Konzentration von 88,5 mMol pro l und eine K^+-Konzentration von 163,7 mMol pro l intrazellulären Wassers.

Welche Ergebnisse der Kationen-Konzentrationen der Hirnrindenschnitte zeigt die vorliegende Arbeit und welche Veränderungen erfuhren sie durch die Zugabe von F-1,6-P_2?

Der Mittelwert der Na^+-Konzentration der ödematisierten Hirnschnitte beläuft sich auf 1o9 mMol pro l intrazellulären Wassers, der der K^+-Konzentration auf 38 mMol pro l intrazellulären Wassers. Der Na^+-

Gehalt ist stets kleiner und der K^+-Gehalt stets größer als der der Inkubationslösung. Der zum Teil gravierende Unterschied unserer Ergebnisse im Vergleich zu FRANCK's Werten könnte durch die Verschiedenheit der Versuchsbedingungen erklärt werden (siehe oben und Abhandlung Methodik).

Zugabe von Fruktosediphosphat, sowohl als Natrium- als auch als Kalzium-Salz, in den beiden Konzentrationen 5 mM und 1o mM verursacht ausgeprägte Erhöhungen der Na^+- und K^+-Konzentrationen des intrazellulären Raumes. 1o mM Fruktosediphosphat als Natrium-Salz bewirken einen durchschnittlichen Na^+-Gehaltsanstieg von 17 mMol pro 1 und K^+-Gehaltsanstieg von 21 mMol pro 1 intrazellulären Wassers. Die Ursache des intrazellulären Natriumanstiegs dürfte in erster Linie darin zu suchen sein, daß das Fruktosediphosphat als Natrium-Salz zugeführt wird. Im Gegensatz dazu kann die Veränderung der intrazellulären K^+-Werte, die zum Normwert hin tendieren, als reiner Stoffwechseleffekt gedeutet werden.

In weiteren Versuchen bliebe nachzuweisen, ob unter den gleichen Bedingungen bei länger dauernder Inkubation die intrazellulären Kationenwerte die Normalkonzentrationen erreichen und ob das Fruktosediphosphat die notwendige Energie liefern kann, den normalen Ionengradienten aufrechtzuerhalten.

6. ZUSAMMENFASSUNG:

Folgende zwei Hirnödemtypen, die für in vitro-Versuche zur Verfügung stehen, stimmen in Bezug auf Morphologie- und Stoffwechsel-Veränderungen mit dem in vivo-Hirnödem überein. Sie kommen in der vorliegenden Arbeit zur Geltung:

1. Das inkubations-bedingte Hirnödem:
   Wenn Hirnrindenschnitte unter günstigen metabolischen Bedingungen in Salzlösungen inkubiert werden, entwickelt sich ein Ödem.
2. Das durch Kältetrauma verursachte Hirnödem:
   Nach Schädeltrepanation zieht epidurale Kälteapplikation in vivo ein Hirnödem nach sich.

Als morphologische Veränderung in der Hirnrinde wird in erster Linie eine ausgeprägte intrazelluläre Flüssigkeitsansammlung nachgewiesen; aufgrund chemischer Untersuchungen wird ein intrazellulärer Natrium-Konzentrations-Anstieg und Kalium-Konzentrations-Abfall gefunden. Außerdem hat sich eine energetische Insuffizienz der Zelle zu Beginn des Hirnödems gezeigt.

Da das Gehirn fast ausschließlich Glukose metabolisiert - der RQ ist annähernd 1 -, wurde in der vorliegenden Arbeit geprüft, ob über eine Stoffwechselsteigerung eine Rückbildung des Hirnödems erreicht werden kann. Zu den inkubierten Kortexschnitten wer-

den Substanzen, die als Anfangs- oder Zwischenprodukte der Glykolyse bekannt sind, zugegeben. Ihre Beeinflussung des Hirnödems wird an folgenden Kriterien gemessen:

1. Veränderung des Wassergehaltes der Hirnschnitte
2. Wirkung auf den Gasstoffwechsel
3. Effekt auf den EMBDEN-MEYERHOF-PARNAS-Abbau: Veränderung der Mengen der Stoffwechselprodukte der Glykolyse
4. Schicksal des zugegebenen Fruktosediphosphats
5. Beeinflussung des Elektrolytgesamtgehaltes der Hirnrindenschnitte
6. Wirkung auf die Größe des EZR und IZR
7. Einfluß auf die intrazellulären Kationenkonzentrationen

Die zugekippten Substanzen sind:

Glukose in den Konzentrationen: 6,5 mM, 1o mM, 15 mM und 2o mM,

G-1-P, als Na^+-Salz, in der Konzentration: 5 mM,

G-6-P, als Na^+-Salz, in den Konzentrationen: 2 mM, 5 mM und 1o mM,

F-1-P, als Na^+-Salz, in der Konzentration: 1o mM,

F-6-P, als Na^+-Salz, in den Konzentrationen: 5 mM und 1o mM,

F-1,6-P_2, teilweise als Na^+- bzw. als Ca^{2+}-Salz, in den Konzentrationen: 1,6 mM, 2 mM, 5 mM und 1o mM,

Die Ausgangssubstanzen (Fruktose, PO_4^{3-}) und die Spaltprodukte (DAP, GAP) des Fruktosediphosphats, so-

wie Kalziumionen in verschiedenen Konzentrationen,
Sorbit in den Konzentrationen: 5 mM und 1o mM.

ad 1. Welche Veränderungen des Wassergehaltes der Hirnschnitte wird nach Zugabe der verschiedenen Substanzen nachgewiesen?

Eine mehr oder minder starke Wasserausschwemmung aus dem ödematisierten Hirngewebe bewirken alle Substanzen, vor allem nach Zugabe in den Konzentrationen 5 mM und 1o mM. Jedoch läßt sich folgender Zusammenhang deutlich eruieren: Der Wasserentzug verstärkt sich mehr und mehr, wenn man die Substanzen sukzessiv, bis zum Fruktosediphosphat, gemäß ihres nacheinander auftretenden Vorkommens als Intermediärsubstrate im EMBDEN-MEYERHOF-PARNAS-Schema zugibt. Folglich kann eine rein osmotische Wirkung dieser Substanzen ausgeschlossen werden. Die energiereichste Verbindung, das Fruktosediphosphat, zeigt die signifikanteste Wasserausschwemmung aus den ödematisierten Kortexschnitten. Eine Stoffwechselsteigerung, zumindest als Teileffekt auf den Wasserentzug, wird vermutet.

ad 2. Erfährt der Gasstoffwechsel aufgrund der zugekippten Substanzen eine Änderung?

Unter der Berücksichtigung, daß die Begasung der inkubierten Hirnschnitte und der Glukosegehalt des Inkubationsmediums für die Größe der Q-Werte mitverantwortlich sind, wird deutlich, daß sowohl Sauerstoff-

Verbrauch als auch Milchsäure-Bildung und somit auch Kohlendioxyd-Entstehung in den Hirnrindenschnitten höher liegen, die durch Kälteapplikation ödematisiert sind.

Die Änderung der Q-Werte im Verlaufe des Versuches ohne Zugabe von Substanzen ist uneinheitlich: meistens erfolgt eine Abnahme der Atmung, nur vereinzelt, unregelmäßig und ohne Erkennen einer Gesetzmäßigkeit steigen die Q-Werte leicht an während der Dauer der Stoffwechselmessung.

Zugaben von Glukose, G-1-P, G-6-P, F-1-P und F-6-P lassen nur vorübergehend einzelne Q-Werte ansteigen; eindeutige Rückschlüsse können nicht gezogen werden. Sorbit vermag nicht den Glukosestoffwechsel zu beeinflussen.

Fruktosediphosphat erweist sich auch hier als potenteste Substanz: Anhand der Q-Wert-Ergebnisse nach zugekipptem Fruktosediphosphat, vor allem als Natrium-Salz, wird nachgewiesen, daß es den Sauerstoff-Verbrauch und die Milchsäure- und Kohlendioxyd-Bildung am ausgeprägtesten steigert und daß dieser Effekt, verglichen mit dem der anderen Substanzen, am längsten während der Versuchsdauer anhält.

ad 3. Wird nach Zugabe der verschiedenen Substanzen mehr Glukose durch das ödematisierte Hirngewebe verbraucht? Werden Laktat- und Pyruvat-Bildung beeinflußt?

Der überwiegend glykolytische Stoffwechsel des Hirngewebes konnte sicher nachgewiesen werden. Gesteigerte aerobe und anaerobe Glykolyse im ödematisierten Kortexgewebe ist ebenfalls bekannt.

Wenn Glukose, G-6-P und F-1-P zu den Hirnrindenschnitten gegeben werden, ist ein Anstieg des Glukoseverbrauchs zu verzeichnen, während Laktat- und Pyruvat-Bildung nur unwesentlich beeinflußt werden. Aus einem großen Teil der zugegebenen Mengen von G-1-P und F-6-P entsteht durch Umwandlung G-6-P, das in die Glukose-Bestimmung miteingeht. Am Versuchsende wird deshalb in der Inkubationslösung mehr Glukose gefunden als zu Beginn vorhanden war. G-1-P und F-6-P tingieren die Laktat- und Pyruvat-Bildung kaum. Zugabe von Sorbit zeigt keine Wirkung auf die Glykolyse.

Fruktosediphosphat erhöht sowohl den Glukose-Verbrauch als auch die Laktat-Bildung deutlich. In fast allen Versuchen mit zugekipptem Fruktosediphosphat wird am Ende weniger Pyruvat gefunden. Folglich ist der Laktat-Pyruvat-Quotient angestiegen. Wenn man nun noch die Ergebnisse der Q-Wert-Tabelle berücksichtigt, kann man vermuten, daß das zugegebene Fruktosediphosphat den Glukoseabbau, in den es selbst in umfangreichem Maße eingeschleust wird, bis zum Schluß der Atmungskette wesentlich steigert.

ad 4. Welche Mengen des zugeführten Fruktosediphos-

phats verschwinden im Laufe des Versuches und wieviel davon wird nach der Stoffwechselmessung als Triosephosphat-Bruchstück wiedergefunden?

Die Triosephosphat-Bruchstücke des Diphosphats DAP und GAP stehen über die gemeinsame Enolform im Gleichgewicht, das durch das Enzym Triosephosphat-Isomerase eingestellt wird und das zu 96 % aufseiten der Ketoform, d.h. DAP, liegt. Deshalb wird am Versuchsende nur das Spaltprodukt DAP nachgewiesen.

Bei Zugabe in steigender Konzentration nimmt der absolut gemessene Verbrauch an Fruktosediphosphat zu. Ein Teil des verschwundenen Diphosphats wird als DAP wiedergefunden, die Differenz-Menge wird also über die Triosephosphatstufe der Glykolyse hinaus verstoffwechselt. Folgende Relation ergibt sich aus diesen Befunden: Je höher die Konzentration des zugegebenen Fruktosediphosphats ist, desto mehr Diphosphat wird verbraucht; es wird auch mehr Fruktosediphosphat über die Triosephosphatstufe hinaus abgebaut, sowohl absolut als auch prozentual gemessen. In einem Versuch wird sogar nachgewiesen, daß das durch Kälteapplikation ödematisierte Hirngewebe die gesamte Menge des verschwundenen Fruktosediphosphats über das Triosephosphat-Intermediärprodukt hinaus metabolisiert. Dadurch ist bewiesen, daß das Fruktosediphosphat in umfangreichem Maße im Rahmen der Glykolyse abgebaut wird.

ad 5 . Welchen Effekt haben die zugegebenen Substanzen auf die Gesamt-Kationengehalte des ödematisierten Hirngewebes?

Während der Inkubation findet ein Natrium-Einstrom in die Hirnschnitte, ein Kalium-Ausstrom aus dem Hirngewebe statt.

Glukose- und auch F-6-P-Zugabe bewirken keine deutlichen Veränderungen der Gesamt-Kationenkonzentrationen des Gewebes.

Wenn Fruktosediphosphat zugekippt wird, erhöht sich die Na^+-Konzentration signifikant, während die K^+-Konzentration der Kortexschnitte kaum tingiert wird. Diese Veränderung zeigen sowohl das Natrium- als auch das Kalzium-Salz des Fruktosediphosphats in annähernd gleichem Ausmaße.

ad 6. Inwieweit werden Extra- und Intrazellular-Raum durch die Wasserausschwemmung betroffen?

Anhand von Inulin-Befunden zur Bestimmung des EZR konnte auch nachgewiesen werden, daß die Schwellung inkubierter Hirnrindenschnitte hauptsächlich intrazellulären Charakter zeigt.

Zugabe von G-1-P verursacht einen geringgradigen Wasserübertritt aus dem IZR in den EZR; der annähernd gleiche Effekt wird durch das zugekippte G-6-P erzielt.

Auch hier zeigt das Fruktosediphosphat die ausgeprägteste Wirkung: Nach Zugabe des Fruktosediphos-

phats wird ein erheblicher Wasserentzug des IZR nachgewiesen. Der größte Anteil der ausgeschwemmten Flüssigkeit wird im EZR wiedergefunden, der Rest ist wahrscheinlich in das Inkubationsmedium übergetreten.

ad 7. Welchen Einfluß übt das Fruktosediphosphat auf die intrazellulären Kationenkonzentrationen aus?

Beide Elektrolytkonzentrationen werden durch die Zugabe von Fruktosediphosphat erhöht. Der intrazelluläre Kalium-Konzentrationsanstieg ist jedoch deutlich größer.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß sich das Fruktosediphosphat als wirksamste aller geprüften Substanzen erweist, das Hirnödem in vitro durch eine Stoffwechselsteigerung und somit Energiebereitstellung in Richtung ad integrum zu beeinflussen.

Anhand weiterer tierexperimenteller Untersuchungen müßte nun nachgewiesen werden, ob sich diese günstigen Effekte des Fruktosediphosphats auch in vivo auf das Hirnödem erzielen lassen. Nebenwirkungen dürften kaum zu erwarten sein, da das Fruktosediphosphat ein im Organismus vorkommendes Intermediärsubstrat darstellt. Vom pekuniären Standpunkt aus betrachtet, dürfte der Einführung des Diphosphats in die Klinik als Therapeutikum des Hirnödems nichts im Wege stehen, wenn es sich durch Tierversuche in vivo qualifiziert hat.

7. L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S :

ALEU F.P., KATZMAN R., TERRY R.D.: Fine structure and electrolyt analysis of cerebral edema induced by alkyl tin intoxication.
J. Neuropath. exp. Neurol. 22, (1963): 403-413

ALEU F.P., EDELMAN F.H., KATZMAN R., SCHEINBERG H.C.: Ultrastructural and biochemical analysis in cerebral edema associated with experimental mouse glioma.
J. Neuropath. exp. Neurol. 23, (1964): 253-263

ALLEN J.N.: Extracellular space in the central nervous system.
Arch. Neurol. Psychiat. (Chic.) 73, (1955): 241-248

BACHELARD H.S., CAMPBELL W.J., MCILWAIN H.: The sodium and other ions of mammalian cerebral tissues, maintained and electrically stimulated in vitro.
Biochem. J. 84, (1962): 225-232

BAKAY L., HAQUE J.: Morphological and chemical studies in cerebral edema. I. Cold induced edema.
J. Neuropath. exp. Neurol. 23, (1964): 393-418

BODENHEIMER T.S., BRIGHTMAN M.W.: A blood-brain-barrier to peroxidase in capillaries surrounded by perivascular spaces.
Amer. J. Anat. 122, (1968): 249-267

BOURKE R.S., TOWER D.B.: Fluid compartmentation and electrolytes of cat cerebral cortex in vitro. I. Swelling and solute distribution in mature cerebral cortex.
J. Neurochem. 13, (1966): 1071-1097

BOURKE R.S., TOWER D.B.: Fluid compartmentation and electrolytes of cat cerebral cortex in vitro. II. Sodium, potassium and chloride of mature cerebral cortex.
J. Neurochem. 13, (1966): 1099-1117

BÜCHER T., HOHORST H.-J. in: BERGMEYER H.U. (Hrsg.): Methoden der enzymatischen Analyse.
2. Aufl., Bd. II, Verlag Chemie, Weinheim/ Bergstr. (1970): 1282-1288

BURK D., WOODS M., HUNTER J.: On the significance of glucolysis for cancer growth, with special reference to morris rat hepatomas.
J. Nat. Cancer Inst. 38, (1967): 839-863

CLASEN R.A., PROUTY R.R., BINGHAM W.G., MARTIN F.A., HASS G.M.: Treatment of experimental cerebral edema with hypertonic glucose, albumin and dextran.
Surg. Gynec. Obstet. 104, (1957): 591-606

CLASEN R.A., COOKE P., TYLER S., PANDOLFI S.: Changes in intracerebral sodium chloride and water associated with experimental cerebral edema.
J. Neuropath. exp. Neurol. 19, (1960): 164

CLASEN R.A., COOKE P., PANDOLFI S., BOYD D., RAIMONDI A.J.: Experimental cerebral edema produced by focal freezing. I. An anatomic study utilizing vital dye techniques.
J. Neuropath. exp. Neurol. 21, (1962): 579-596

DAVID E., MARX I., DAVID H.: Zur Feinstruktur des experimentell erzeugten subakuten und chronischen Hirnödems.
Acta Neuropath. 9, (1967): 217-232

DE CASTILLO in: BOURKE R.S., TOWER D.B.: Fluid compartmentation and electrolytes of cat cerebral cortex in vitro. I. Swelling and solute distribution in mature cerebral cortex.
J. Neurochem. 13, (1966): 1071-1097

DE ROBERTIS E., GERSCHENFELD H.M.: Submicroscopic morphology and function of glial cells.
Int. Rev. Neurol. 3, (1961): 1-65

DITTMANN J., HERRMANN H.-D., OBERMANN U.: Examination of the metabolism of oedematous brain tissue. II. The influence of the glucose concentration on the respiration and the aerobic glycolysis of normal and oedematous rabbit-brain in vitro.
Acta Neurochir. (1972): im Druck

EBINA T.: Über den Stoffwechsel des Kaninchensarkoms.
Tohoku J. Exp. Med. 13, (1929): 424-444

EDSTRÖM R.: An explanation of the blood-brain-barrier.
Acta Psychiat. Scand. 33, (1958): 403-416

EDSTRÖM R., ESSEX H.E.: Swelling of damaged brain tissue.
Neurology 5, (1955): 490-493

EDSTRÖM R., STEINWALL O.: The blood-brain-barrier phenomenon. The relative importance of permeability and cellular transport mechanisms.
Acta Psychiat. Scand. 37, (1961): 1-21

ELLIOTT K.A.C.: Swelling of brain slices and the permeability of brain cells to glucose.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 63, (1946): 234-236

FRANCK G., CORNETTE M., SCHOFFENIELS E.: The cationic composition of incubated cerebral cortex slices.
J. Neurochem. 15, (1968): 843-857

FRIEDE R.L.: The cytochemistry of normal and reactive astrocytes.
J. Neuropath. exp. Neurol. 21, (1962): 471-478

GERSCHENFELD H.M., WALD F., ZADUNAISKY J.A., DE ROBERTIS E.D.P.: Function of astroglia in the water ion metabolism of the central nervous system.
Neurology (Minneap.) 9, (1959): 412-425

GONATAS N., ZIMMERMANN H.M., LEVINE S.: Ultrastructure of inflammation with edema in the rat brain.
Amer. J. Path. 42, (1963): 455-469

HAGEMEIJER F., RORIVE G., SCHOFFENIELS E.: The ionic composition of rat aortic smooth muscle fibres.
Arch. Intern. Physiol. Biochim. 73, (1965): 453-475

HAMPERL H.: Lehrbuch der allgemeinen Pathologie und der pathologischen Anatomie.
26. Aufl., Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York (1965): 42o-421

HERRMANN H.-D., HORT W., LOEW F., PALLESKE H.: The determination of the specific tissue impe-

dance.- A simple method of measuring the experimental cerebral edema.
Cs. Neurol. 31, (1968): 1o5-111

HERRMANN H.-D., DITTMANN J.: Examination of the metabolism of oedematous brain tissue. I. Alterations of the metabolism in the cold-induced oedema of the rabbit-brain measured manometrically in vitro.
Acta Neurochir. 22, (197o): 167-175

ISHII S., HAYNER R., KELLY W.A., EVANS J.P.: Studies of cerebral swelling. II. Experimental cerebral swelling produced by supratentorial extradural compression.
J. Neurosurg. 16, (1959): 152-166

ISHII S., TSUJI H., OZAWA K., KONDO Y., EVANS J.P.: Brain edema; some clinical and experimental correlations. In: Brain edema: Proceedings Symp., Sept. 11-13th, 1965, Vienna (Ed. KLATZO I., SEITELBERGER F.), Springer Verlag Wien, New York (1967): 32-66

JAKUMEIT H.-D.: Tierexperimentelle Untersuchungen am Kaninchen über die Veränderungen der arteriosinösen Glukosedifferenz beim Hirnödem.
Inauguraldissertation, Neurochir. Kl. d. Univ. d. Saar. 1967

JOANNY P., HILLMAN H.: Substrates and the potassium and sodium levels of giunea pig: cerebral cortex slices in vitro: effects of application of electrical pulses, of inhibitors and of anoxia.
J. Neurochem. 1o, (1963): 655-664

JOANNY P., HILLMAN H.: Further studies on the potassium

and sodium concentrations of mammalian cerebral slices in vitro.
J. Neurochem. 11, (1964): 413-422

JOANNY P., HILIMAN H., CORRIOL J.: The effect of some amino acids, glycolytic intermediates and citric acid cycle intermediates on the swelling and the potassium and sodium concentrations of guinea pig cerebral cortex slices in vitro.
J. Neurochem. 13, (1966): 371-374

KARLSON P.: Kurzes Lehrbuch der Biochemie für Mediziner und Naturwissenschaftler, 6. Aufl., Georg Thieme Verlag, Stuttgart, (1967): 24o-242

KEESEY J.C., WALLGREN H.: Movements of radioactive sodium in cerebral cortex slices in response to electrical stimulation.
Biochem. J. 95, (1965): 3o1-31o

KLATZO I., PIRAUX A., LASKOWSKI E.J.: The relationship between edema, blood-brain-barrier and tissue elements in local brain injury.
J. Neuropath. exp. Neurol. 17, (1958): 548-564

KLATZO I., MIQUEL J., OTENASEK R.: The application of fluorescein labelled serum proteins (FLSP) to the study of vascular permeability in the brain.
Acta Neuropath. (Berlin) 2, (1962): 144-16o

KLEIN J.R., OLSEN N.S.: Effect of convulsive activity upon the concentration of brain glucose, glycogen, lactate and phosphates.
J. Biol. Chem. 167, (1947): 747-756

KREBS H.A., ROSENHAGEN H.: Über den Stoffwechsel des Plexus choroideus.
Z. f. Neurol. 134, (1931): 643-648

KREMER G.: Verlaufsdarstellung der Elektrolyt- und Wassergehaltsänderungen beim experimentellen Kälteödem des Kaninchenhirns und deren therapeutische Beeinflussung durch Dexamethason und Venostasin^{R}.
Inauguraldissertation, Neurochir. Kl. d. Univ. d. Saarl. 1967

LABORIT H., WEBER B.: Physiopathologie de l'oedème cérébral.
Revue Aggressologie 6, (1965): 743-759

LONG D.M., HARTMANN J.F., FRENCH L.A.: The ultrastructure of human cerebral edema.
J. Neurosurg. 24, (1966): 373-395

LUDT H., DITTMANN J.: Vereinfachte Ausrechnung von Warburg-Versuchen nach der Zwei-Gefäß-Methode mit einem programmierbaren Tischrechner.
Z. klin. Chem. u. klin. Biochem. 8, (1970): 656-657

LUDT H., DITTMANN J.: Rechnerische und graphische Auswertung von manometrischen Stoffwechselmessungen mit einer elektronischen Rechenanlage.
Z. med. Labortechnik 13, (1972): 79-84

LULLIES H.: Peripherer Nerv. In: Kurzgefaßtes Lehrbuch der Physiologie (Hrsg. KEIDEL D.), 1. Aufl., Georg Thieme Verlag, Stuttgart, (1968): 316-349

LUND-ANDERSEN H., HERTZ L.: Effects of potassium and

of glutamate on swelling and on sodium and potassium content in brain-cortex slices from adult rats.
Exp. Brain Res. 11, (197o): 199-212

MCILWAIN H.: Glucose level, metabolism, and response to electrical impulses in cerebral tissues from man and laboratory animals.
Biochem. J. 55, (1953): 618-624

MCILWAIN H., BUDDLE H.L.: Techniques in tissue metabolism. I. A mechanical chopper.
Biochem. J. 53, (1953): 412-42o

MCILWAIN H., TRESIZE M.A.: The glucose, glycogen and aerobic glycolysis of isolated cerebral tissues.
Biochem. J. 63, (1956): 25o-257

NEGELEIN E., SCHÖN R., GRAETZ H.: Über die Wirkung ungesättigter Fettsäuren auf die Glykolyse der Ehrlichschen Mäuseascitescarcinomzelle.
Acta biol. med. germ. 11, (1963): 7oo-7o4

NEMETSCHEK-GANSLER H., LOEW F., PLOGSTIES H.R.: Phasenkontrast- und elektronenmikroskopische Untersuchungen zur Wirkung des Harnstoffs auf das Gehirn.
Acta Neurochir. 11, (1964): 664-675

NIESSING K.: Über den histologischen Aufbau der Blut-Hirn-Schranke.
Dtsch. Z. Nervenheilk. 164, (1952): 485-498

OKAMOTO K., QUASTEL J.H.: Water uptake and energy metabolism in brain slices from the rat.
Biochem. J. 12o, (197o): 25-36

OPITZ E.: Energieumsatz des Gehirns in situ unter aeroben und anaeroben Bedingungen.
3. Kolloquium, Ges. Physiol. Chemie, 26.-27.4.1952 Mosbach/Baden.
Springer Verlag Berlin, Göttingen, Heidelberg, (1952): 66-1o8

PALLESKE H., HERRMANN H.-D., LOEW F.: Durchblutung und Stoffwechsel im experimentellen Hirnödem.
Aus: Vortrag auf gemeins. Kongr. d. Nordischen, Deutschen u. Schweizer Neurochirurgenvereinigung, Bad Dürkheim, 4.-7.5.1966

PALLESKE H., HERRMANN H.-D.: Verlaufsuntersuchungen über die Veränderungen des Elektrolyt- und Wassergehaltes des Gehirns im experimentellen Hirnödem und Möglichkeiten der therapeutischen Beeinflußbarkeit.
Zbl. Neurochir. 31, (197o): 31-38

PAPPIUS H.M.: The distribution of water in brain tissues swollen in vitro and in vivo.
Progr. Brain Res. 15, (1965): 135-154

PAPPIUS H.M., ELLIOTT K.A.C.: Water distribution in incubated slices of brain and other tissues.
Canad. J. Biochem. Physiol. 34, (1956): 1oo7-1o22

PAPPIUS H.M., ELLIOTT K.A.C.: Factors affecting the potassium content of incubated brain slices.
Canad. J. Biochem. Physiol. 34, (1956): 1o53-1o67

PAPPIUS H.M., GULATI D.R.: Water and electrolyte content of cerebral tissues in experimentally induced edema.

Acta Neuropath. (Berlin) 2, (1963): 451-46o

PETERS G.: Über gedeckte Gehirnverletzungen (Rindenkontusionen) im Tierversuch.
Zbl. Neurochir. 8, (1943): 172-2o8

QUADBECK G., HEIMCHEN H.: Die Blut-Hirn-Schranke.
Dtsch. Med. Wschr. 82, (1957): 1377-1382

RAIMONDI A.J., EVANS J.P., MULLEN S.: Studies of cerebral edema. III. Alterations in the white matter: An electron-microscopic study using ferritin as a labeling compound.
Acta Neuropath. 2, (1962): 177-197

REESE T.S., KARNOVSKY M.: Fine structural localisation of blood-brain-barrier to exogenous peroxidase.
J. Cell. Biol. 34, (1967): 2o7-217

REICHARDT M.: Über die Bestimmung der Schädelkapazität an der Leiche.
Allg. Z. f. Psychiat. 62, (19o5): 787

REICHARDT M.: Hirnschwellung.
Allg. Z. f. Psychiat. 75, (1919): 34-1o3

REICHARDT M.: Das Hirnödem. Anhang: Die Hirnschwellung.
In: Hdb. d. spez. pathol. Anat. u. Histol., Springer Verlag Berlin, Göttingen, Heidelberg, XIII/I/B, (1957): 1229-1283

REULEN H.J., BRENDEL W.: Pathophysiologie und Therapie des posttraumatischen Hirnödems.
Med. Mitt. (Mels.) 39, (1965): 117-191

RICKER G.: zit. nach PETERS G. (1943)

RIDGE J.W.: Resting and stimulated respiration in vitro in the central nervous system.
Biochem. J. 105, (1967): 831-835

RODNIGHT R., MCILWAIN H.: Techniques in tissue metabolism. III. Study of tissue fragments with little or no added aqueous phase, and in oils.
Biochem. J. 57, (1954): 649-661

RODRIGUEZ-PERALTA L.A.: The role of the meningeal tissues in the hemato-encephalic barrier.
J. comp. neurol. 107, (1957): 455-473

SCHALTENBRAND G., BAILEY P.: Die perivaskuläre Piagliamembran des Gehirns.
J. Psychiat. Neurol. 35, (1928): 199-278

SCHOFFENIELS E., HAGEMEIJER F., RORIVE G.: L'espace extracellulaire des fibres musculaires lissés.
Arch. Intern. Physiol. Biochim. 74, (1966): 845-852

SCHRÖDER J.M., WECHSLER W.: Ödem und Nekrose in der grauen und weißen Substanz beim experimentellen Hirntrauma. (Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen)
Acta Neuropath. 5, (1965): 82-111

SEN A.K., TOBIN T.: A cycle for ouabain inhibition of sodium- and potassium-dependent adenosine triphosphatase.
J. Biol. Chem. 244, (1969): 6596-6604

SHIMIZU N., KUMAMOTO T.: Histochemical studies on the glycogen of the mammalian brain.
Anat. Rec. 114, (1952): 479

SKOU J.C.: Enzymatic basis for active transport of Na^+ and K^+ across cell membrane.
Physiol. Rev. 45, (1965): 596-617

SPATZ H.: Die Bedeutung der vitalen Färbung für die Lehre vom Stoffaustausch zwischen dem ZNS und dem übrigen Körper.
Arch. Psychiat. Nervenkr. 101, (1933): 267

SPATZ H.: On local changes in the brain in cases of increased intracranial pressure.
Zbl. f. Neurochir. 2, (1938): 355

SPATZ H.: Gehirnpathologie im Kriege. Von den Gehirnwunden.
Zbl. f. Neurochir. 4, (1941): 162-212

STREICHER E., FERRIS P.J., PROKOP J.D., KLATZO I.: Brain volume and thiocyanate space in local cold injury.
Arch. Neurol. (Chic.) 11, (1964): 444-448

STROEBE zit. nach HILLER F.: Die Zirkulationsstörungen des Gehirns und Rückenmarks. In: Hdb. d. Neurol. (Hrsg. BUMKE O., FOERSTER O.) Springer Verlag Berlin, IX, (1936): 316-325

TANI E., EVANS J.P.: Electron studies of cerebral swelling III.
Acta Neuropath. 4, (1965): 604-623

TORACK R.M., TERRY R.D., ZIMMERMANN H.M.: The fine structure of fluid accumulation. I. Swelling secondary to cold injury.
Amer. J. Path. 35, (1959): 1135

TORACK R.M., BARRNETT R.J.: The fine structural lo-

calization of nucleoside phosphatase activity in the blood-brain-barrier.
J. Neuropath. exp. Neurol. 23, (1964): 46-59

TOWER D.B., BOURKE R.S.: Fluid compartmentation and electrolytes of cat cerebral cortex in vitro. III. Ontogenetic and comparative aspects.
J. Neurochem. 13, (1966): 1119-1137

TRAUTMANN D.: Sind nach in vitro-Untersuchungen mit Hirnschnitten in der überstehenden Inkubationslösung Glycolyse-Enzyme nachweisbar?
Inauguraldissertation, Neurochir. Kl. d. Univ. d. Saarl. 197o

VAN HARREVELD A., MURPHY T., NOBEL K.W.: Specific impedance of rabbit's cortical tissue.
Amer. J. Physiol. 2o5, (1963): 2o3-2o7

VARON S., MCILWAIN H.: Fluid content and compartments in isolated cerebral tissues.
J. Neurochem. 8, (1961): 262-275

VON ARDENNE M.: Theoretische und experimentelle Grundlagen der Krebs-Mehrschritt-Therapie.
VEB Verlag Volk und Gesundheit, Berlin, (1967): 253-259

WARBURG O.: Neue manometrische Zwei-Gefäß-Methode.
Hoppe Seyler's Z.
Physiol. Chem. 348, (1967): 1677-1682

WARBURG O., GAWEHN K., GEISSLER A.W.: Manometrie der Körperzellen unter physiologischen Bedingungen.
Z. Naturforsch. 12b, (1957): 115-118

WEIL-MALHERBE H.: Der Energiestoffwechsel des Nervengewebes und sein Zusammenhang mit der Funktion.
3. Kolloquium, Ges. Physiol. Chemie, 26.-27.4.1952 Mosbach/Baden.
Springer Verlag Berlin, Göttingen, Heidelberg, (1952): 41-65

WHITTAM R.: In: The Neurosciences, S. 313. Hrsg: QUARTON G.C., MELNECHUK T., SCHMITT F.O., Rockefeller University Press, New York.

ZÜLCH K.J.: Hirnschwellung und Hirnödem.
Dtsch. Z. Nervenheilk. 170, (1953): 179-208

Herrn Prof. Dr. med. F. Loew danke ich für die Überlassung des Themas. Herrn Prof. Dr. med. H.-D. Herrmann, Herrn Prof. Dr. med. H. Palleske und vor allem Herrn Dr. rer. nat. J. Dittmann und seinen Mitarbeitern im Labor der Neurochirurgischen Klinik der Universität des Saarlandes danke ich für Ihre freundliche Unterstützung während der Durchführung der zur Dissertation notwendigen Untersuchungen.

L E B E N S L A U F

Am 6.3.1949 wurde ich als Sohn des kaufm. Angestellten Johannes Klinge und dessen Ehefrau Rosa, geb. Albert, in Kübelberg geboren.

Von 1955 bis 1959 besuchte ich die Volksschule Kübelberg, danach das Staatl. Knaben-Realgymnasium Homburg, wo ich im Juli 1967 die Reifeprüfung ablegte. Seit dem Wintersemester 1967/68 studiere ich an der Medizinischen Fakultät der Universität des Saarlandes. Zur Zeit absolviere ich das 1o. Fachsemester.